

UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

COMPORTAMIENTO ECOFISIOLÓGICO
DE *Theobroma cacao* L. EN
DIFERENTES ARREGLOS
AGROFORESTALES BAJO
CONDICIONES DE LA AMAZONIA
COLOMBIANA

Juan Carlos Suárez Salazar

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Posgrado en Biología
Programa de doctorado en Ciencias Biológicas
Bogotá, D. C. 2017

**COMPORTAMIENTO ECOFISIOLÓGICO
DE *Theobroma cacao* L. EN
DIFERENTES ARREGLOS
AGROFORESTALES BAJO
CONDICIONES DE LA AMAZONIA
COLOMBIANA**

Juan Carlos Suárez Salazar

M.Sc. Agroforestería Tropical

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Ciencias Biológicas

Directora:

Ph.D. Luz Marina Melgarejo Muñoz

Codirector:

Ph.D. Fernando Casanoves

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Posgrado en Biología

Programa de doctorado en Ciencias Biológicas

Bogotá, D. C. 2017

“El presidente de tesis y el consejo evaluador, no serán responsables de las ideas emitidas por el autor”.

(Artículo 217 de los Estatutos de la Universidad Nacional de Colombia)

ESTE DOCUMENTO COMPRENDE CINCO (5) CAPÍTULOS CUYO FORMATO INDIVIDUAL ES DE ARTÍCULO CIENTÍFICO: INTRODUCCIÓN, MÉTODOS, RESULTADOS Y DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y LITERATURA CITADA EN CADA UNO DE ELLOS. DEBIDO A ESTO, ALGUNAS DEFINICIONES Y REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS PUEDEN ESTAR REPETIDAS. ESTE DOCUMENTO SE AJUSTA A LOS ARTÍCULOS 27 Y 30 DEL CAPÍTULO 5, **ACUERDO NÚMERO 020 DE 2001**, LOS CUALES REGLAMENTAN LOS TRABAJOS DE TESIS DE DOCTORADO DENTRO DE LOS ESTUDIOS DE POSGRADO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA.

A Dios, por permitir dar las condiciones para el crecimiento personal

A mi madre y hermana por su apoyo incondicional

A mis hijos Adriana Lucia y Juan José

Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con la colaboración financiera de COLCIENCIAS mediante fondos BID en el marco del proyecto “Caracterización y tipificación de plantaciones tradicionales de *Theobroma cacao* L. como estrategia de diseño e implementación de arreglos agroforestales en el Bajo Caguán (Cartagena del Chaira) ejecutado por la Universidad de la Amazonía mediante contrato especial de cooperación 590 de 2012 y mediante fondos de Formación Doctoral de la Universidad de la Amazonia por medio de la estampilla “Prodesarrollo de la Universidad de la Amazonia” Ley No 1301 del 2009 y a la colaboración de las siguientes personas y entidades:

A Leonidas Rico Martínez (Rector de la Universidad de la Amazonia 2011-2016), Gerardo Castrillón Artunduaga (Rector actual de la Universidad de la Amazonia), Alberto Fajardo Oliveros (Vicerector de Investigaciones y Postgrados) y a todo el equipo administrativo, por todo el apoyo institucional brindado en el desarrollo de mi formación doctoral.

A Luz Marina Melgarejo, por la dirección y orientación de la tesis. Profesora Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia.

A Fernando Casanoves, por su co-dirección de la tesis. Director de la Unidad de Biometría del Centro Agronomico Tropical de Investigación y Enseñanza CATIE.

A los diferentes profesores investigadores quien en cada una de sus areas aportaron en la consolidación del trabajo de investigación como: A Julio Alejandro Di Rienzo, por sus aportes en los análisis estadísticos. Profesor de la Facultad de Agronomía, Universidad de Cordoba. Lider del programa estadístico InfoStat. A Fábio M. DaMatta, por sus aportes en el componente de fisiología vegetal. Profesor de Fisiología Vegetal de la Universidad Federal de Viçosa, Brasil. A Cristina Armas, por sus aportes sobre adaptación fisiológica en relación al uso del agua. Investigadora de la Estación Experimental de Zonas

Áridas de España. A Marie Ange Ngo Bieng, por sus aportes en el modelamiento de la distribución espacial de los árboles. Investigadora del CIRAD, Francia.

A cada uno de los colegas que ayudaron al desarrollo del proyecto 590 del 2012 y colaboraron en la recopilación de información en campo tanto en la zona de Remolinos del Caguan como en el Centro de Investigaciones Macagual relacionada con estructura agroforestal, flujo de savia y comportamiento fisiológico del cacao, A Adrian Rico Aristizabal, Katherine Angel Sanchez, Ervin Durán, Diana Sanchez, Arturo Fernandez, Jhon Eduar Noriega, Ronald Rojas, Diego Castro, Leidy Machado, Andres Morales, David Saavedra, Leonardo Rodriguez, Lised Guaca, Edwin Trujillo Trujillo.

A cada uno de los productores de la asociación de productores de cacao de Remolinos del Caguán y Suncillas CHOCAGUAN que permitieron el desarrollo de la investigaciones en cada una de sus fincas.

A todos ellos y a los que no he podido nombrar por espacio y tiempo, mi más sincero agradecimiento.

Resumen

El cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) es una de las actividades agrícolas importantes en el mundo con una producción de 5 millones de toneladas de grano al año; cultivadas bajo diferentes arreglos agroforestales que al generar distintos niveles de sombra y modificar las características ambientales, repercuten sobre el comportamiento fisiológico del cultivo. Para ello, se evaluó el comportamiento fisiológico (flujo de savia V_s e intercambio de gases) del cultivo del cacao bajo arreglos agroforestales y sus relaciones con las variables ambientales (humedad relativa del aire RH %, temperatura del aire T_{air} °C, radiación fotosintéticamente activa PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, y déficit de presión de vapor VPD , kPa). Se realizó una caracterización en 50 parcelas agroforestales de 2000m² cada una. A los individuos de las especies de árboles presentes en cada parcela se les tomaron variables de composición y estructura vertical y variables de organización espacial para modelar la distribución de la luz en cada parcela, usando dos modelos: *Shademotion* y *Sexl-Fs*. Se identificaron 4 tipologías de sombra: multiestrato diversificado complejo (SMD, $n=13$), baja diversidad de árboles regulares (SAR, $n=10$), baja diversidad de árboles agregados (SAA, $n=18$), y alta densidad de musáceas (CP, $n=9$). Las principales diferencias en diversidad de especies de árboles (SMD=12.92, SAR=5.86, SAA=3.14, CP=3), como también en la estructura espacial de los árboles del dosel de sombra (aleatorio en el SMD, regulares en el SAR, agregados en el SAA, sin árboles de sombra en el CP) que impactaron la radiación transmitida en el dosel del cacao fueron SMD=680.4 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAR=820.3 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAA=1200.8 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, y CP=1400.6 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$). A nivel del flujo de savia, los resultados mostraron una asociación positiva con la PAR , el VPD , la T_a y negativa con la RH_a . En el arreglo bajo sombra temporal transmitida y generada en la asociación cacao-plátano (CP) hubo una mayor V_s diaria y nocturna. Además, bajo los arreglos agroforestales SMD y SAA se presentaron reversos nocturnos del flujo de savia, lo cual es indicativo de redistribución hidráulica. En relación al intercambio de gases, las plantas de cacao crecidas bajo menor sombrero, es decir, mayor número de horas de radiación (arreglo CP) comparadas con las crecidas bajo mayor

sombrío (arreglo SMD) presentaron mayor tasa neta de asimilación de carbono (A) (8.09 ± 0.1078 frente a $3.28 \pm 0.1153 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mayor tasa máxima de carboxilación ($V_{C_{max}}$) (24.98 ± 0.87 frente a $17.76 \pm 1.28 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y mayor tasa de regeneración de RuBP controlada por el transporte de electrones (J_{max}) (48.19 ± 1.37 frente a $46.27 \pm 4.78 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Al analizar la relación entre el comportamiento fisiológico y las variables ambientales, el modelo de ecuaciones estructurales (SEM) mostró un buen ajuste a los datos indicados por el valor no significativo χ^2 ($P = 0,85$), alto índice de ajuste comparativo ($\text{CFI} = 0.97$), bajo Error cuadrático medio de aproximación ($\text{RMSEA} < 0,001$) y bajo índice de estabilidad ($\text{EI} = 0,23$), explicando la relación existente entre las variables ambientales resultado de la modificación de cada estructura agroforestal sobre el comportamiento fisiológico del cacao. Este estudio proporciona evidencia sobre el comportamiento del V_s en el cultivo del cacao, influenciado por la estructura agroforestal bajo las condiciones de la Amazonia. Se sugiere que los cacaotales en esta región pueden ser manejados con sombra temporal transmitida (arreglo CP) ya que se maximiza el V_s diurno y nocturno como también la tasa neta de asimilación de carbono.

Palabras clave: *Theobroma cacao* L., amazonia, arreglos agroforestales, flujo de savia, intercambio de gases

Abstract

The cultivation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) is one of the important agricultural activities in the world with a production of 5 million tons of grain per year; cultivated under different agroforestry arrangements that, by generating different levels of shade and modifying environmental characteristics, have an impact on the physiological behavior of the crop. For this, the physiological behavior (sap flow V_s and gas exchange) of the cocoa crop under agroforestry arrangements and its relations with the environmental variables (relative humidity of the air RH%, air temperature T_{air} °C, photosynthetically active radiation PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, and vapor pressure deficit VPD, kPa). A characterization was carried out in 50 agroforestry plots of 2000 m² each. Individuals of the tree species present in each plot were taken variables of composition and vertical structure and variables of spatial organization to model the distribution of light in each plot, using two models: Shademotion and Sexl-FS. Four types of shade were identified: complex diversified multi-layer (SMD, n = 13), low diversity of regular trees (SAR, n = 10), low diversity of aggregate trees (SAA, n = 18), and high density of musaceas (CP, n = 9). The main differences in tree species diversity (SMD = 12.92, SAR = 5.86, SAA = 3.14, CP = 3), as well as in the spatial structure of shade canopy trees (random in SMD, regular in SAR, aggregates in the SAA, without shade trees in the CP) that impacted the radiation transmitted in the cacao canopy were SMD = 680.4 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAR = 820.3 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAA = 1200.8 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, and CP = 1400.6 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$). At the sap flow level, the results showed a positive association with the PAR, the VPD, the T_a and negative with the RH_a. In the arrangement under temporary shade transmitted and generated in the cocoa-banana association (PC) there was a higher daily and night V_s . In addition, under the SMD and SAA agroforestry arrangements there were nocturnal reversals of the sap flow, which is indicative of hydraulic redistribution. In relation to the exchange of gases, cocoa plants grown under shadier conditions, that is, a greater number of hours of radiation (CP arrangement) compared with those with a higher somber growth (SMD arrangement), presented a higher net rate of carbon assimilation (A) (8.09 ± 0.1078 vs. $3.28 \pm 0.1153 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), highest maximum

carboxylation rate (V_{cmax}) (24.98 ± 0.87 vs. $17.76 \pm 1.28 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) and higher rate of regeneration of RuBP controlled by electron transport (J_{max}) (48.19 ± 1.37 versus $46.27 \pm 4.78 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$). When analyzing the relationship between physiological behavior and environmental variables, the structural equation model (SEM) showed a good fit to the data indicated by the non-significant value χ^2 ($P = 0.85$), high index of comparative adjustment (CFI) = 0.97, low mean square error of approximation (RMSEA <0.001) and low stability index (EI = 0.23), explaining the relationship between environmental variables resulting from the modification of each agroforestry structure on the physiological behavior of cocoa . This study provides evidence on the behavior of the Vs in the cocoa crop, influenced by the agroforestry structure under the conditions of the Amazon. It is suggested that cocoa plantations in this region can be managed with transmitted temporal shade (CP arrangement) since the day and night Vs are maximized as well as the net rate of carbon assimilation.

Keywords: *Theobroma cacao* L., Amazonia, agroforestry arrangements, sap flow, gas exchange

Contenido

Resumen	IX
Lista de figuras	XVI
Lista de tablas	XVIII
Lista de Símbolos y abreviaturas	XX
1. Capítulo 1. Introducción general	23
1.1 Estado del problema actual	24
1.2 OBJETIVOS	26
1.2.1 GENERAL	26
1.2.2 ESPECÍFICOS	26
2. Capítulo 2. Tipología de sistemas agroforestales de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) en la Amazonia colombiana, basada en estructura espacial y radiación solar transmitida	27
2.1 Resumen	27
2.2 Abstract	28
2.3 Introducción	29
2.4 Materiales y métodos	30
2.4.1 Área de estudio y selección de parcelas de muestreo	30
2.4.2 Variables para tipificación de estructuras espaciales agroforestales y radiación transmitida	31
2.4.3 Análisis de datos	32
2.5 Resultados	34
2.5.1 Tipologías de las parcelas estudiadas	34
2.5.2 Riqueza de árboles en los arreglos agroforestales de la Amazonia colombiana	41
2.5.3 Radiación transmitida	42
2.6 Discusión	48
2.7 Agradecimientos	50
2.8 Referencias bibliográficas	51
3. Capítulo 3. Non-destructive estimation of the leaf weight and leaf area in cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.)	56
3.1 Abstract	56
3.2 Introduction	57
3.3 Materials and methods	58

3.4	Results	60
3.5	Discussion	64
3.6	Acknowledgments	66
3.7	References	66
4.	Capítulo 4. Modelos de predicción de flujo de savia en árboles de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en el occidente de la Amazonía colombiana	69
4.1	Resumen	69
4.2	Abstract	70
4.3	Introducción	71
4.4	Materiales y métodos	72
4.4.1	Sitio de estudio y arreglos agroforestales	72
4.4.2	Monitoreo de variables ambientales y flujo de savia	73
4.4.3	Análisis estadístico	74
4.5	Resultados	75
4.5.1	Variación de condiciones ambientales bajo los distintos arreglos agroforestales	75
4.5.2	Respuesta del V_s y su relación con las condiciones ambientales en los arreglos agroforestales	78
4.5.3	Modelación del V_s	79
4.6	Discusión	84
4.7	Agradecimientos	87
4.8	Referencias bibliográficas	88
5.	Capítulo 5. Limitaciones de la fotosíntesis en hojas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en la amazonia colombiana	96
5.1	Resumen	96
5.2	Abstract	97
5.3	Introducción	98
5.4	Materiales y métodos	99
5.4.1	Sitio de estudio y arreglos agroforestales	99
5.4.2	Determinación de las condiciones de radiación	100
5.4.3	Determinación de tasa de fotosíntesis, curvas de respuesta fotosintética a la luz y a CO_2 bajo los diferentes arreglos agroforestales	101
5.4.4	Determinación de parámetros de fluorescencia Chl_a bajo los diferentes arreglos agroforestales	102
5.4.5	Determinación del área foliar específica	102
5.4.6	Determinación de clorofilas totales, carotenoides y Nitrógeno	103
5.4.7	Análisis de datos	103
5.5	Resultados	103
5.6	Discusión	108
5.7	Agradecimientos	111
5.8	Referencias bibliográficas	112

6. Capítulo 6. Análisis de relación entre el intercambio de gases y flujo de savia con las variables climáticas bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao mediante modelos de ecuaciones estructurales	118
6.1 Resumen	118
6.2 Abstract	119
6.3 Introducción	120
6.4 Materiales y Métodos	121
6.4.1 Sitio de estudio y arreglos agroforestales	121
6.4.2 Caracterización de arreglos agroforestales	121
6.4.3 Variables microclimáticas	122
6.4.4 Variables fisiológicas	122
6.4.5 Análisis estadístico	124
6.5 Resultados	124
6.6 Discusión	131
6.6.1 Efectos directos e indirectos entre variables climáticas y el intercambio gaseoso bajo los arreglos agroforestales	131
6.6.2 Efectos directos e indirectos del V_s entre variables climáticas bajo los arreglos agroforestales	133
6.7 Agradecimientos	134
6.8 Referencias bibliográficas	135
7. Capítulo 7. Consideraciones finales y conclusiones	146

Lista de figuras

- Figura 2-1 Ordenamiento de los arreglos agroforestales tipificados incluidos en el plano factorial de un análisis de componentes principales de las variables de composición, estructura espacial y distribución de la radiación. Las abreviaturas se encuentran en la tabla 2.1.* _____ 35
- Figura 2-2 Análisis de clúster de las tipologías basados en los resultados de componente principal de las variables de composición, estructura espacial y distribución de la radiación. SMD: multiestrato diversificado complejo, SAR: baja diversidad de árboles regulares, SAA: baja diversidad de árboles agregados y CP: alta densidad de musáceas (n=50, p<0.05).* _____ 36
- Figura 2-3 Ordenamiento de los arreglos agroforestales incluidos en la muestra n=50 en el plano definido por los dos primeros ejes. Las siglas correspondientes a los arreglos agroforestales muestreados se encuentran ubicadas en el centroide, SMD: multiestrato diversificado complejo, SAR baja diversidad de árboles regulares, SAA: baja diversidad de árboles agregados y CP: alta densidad de musáceas.* _____ 37
- Figura 2-4 Distribución horizontal y perfil vertical en una parcela típica de cada tipología cacaotera, modelación realizada en el simulador espacial SExl-FS y Shademotion. La radiación transmitida se expresa en escala de grises donde mayor intensidad indica mayor sombrío. SMD: multiestrato diversificado complejo, SAR complejo baja diversidad de árboles regulares, SAA: complejo baja diversidad de árboles agregados y CP: alta densidad de musáceas.* _____ 42
- Figura 3-1 Scatter plots matrix between area, weight, length (L) and width (W) of the leaves of Theobroma cacao L.* _____ 61
- Figura 3-2 Relationship between the observed weight and the expected weight of the leaves of cacao plants (Theobroma cacao L.). Regression line of observed versus expected values: dotted line, reference line (x=y): solid.* _____ 63
- Figura 3-3 Relationship between observed leaf area and expected leaf area in leaves of cacao plants (Theobroma cacao L.). The dotted line represents the line y=x.* _____ 64
- Figura 4-1. Comportamiento de variables microclimáticas (a. humedad relativa del aire RH_a %, b. la temperatura del aire T_a, °C, c. radiación fotosintéticamente activa PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, d. déficit de presión de vapor VPD, kPa), en época seca (Enero, 2015), bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao: Alta densidad de musáceas (CP). Baja diversidad de árboles agregados (SAA) y Multiestrato diversificado complejo (SMD). Los símbolos y barras de error son el valor medio (+/- E.E) entre días de esa variable a la hora indicada. El monitoreo de época seca corresponde a los días 13 a 27 de enero (año del 2015), debido a que en esta época se presentan períodos de déficit hídrico para el cultivo de cacao.* _____ 77
- Figura 4-2 Comportamiento diario y en el periodo de monitoreo (época seca) del flujo de savia (V_s) en plantas de cacao (n=4) bajo diferentes arreglos agroforestales: Alta densidad de musáceas (CP). Baja diversidad de árboles agregados (SAA). Multiestrato diversificado complejo (SMD). Los símbolos y barras de error son el valor medio (+/- SE) para las 4 plantas y entre días de V_s.* _____ 78
- Figura 4-3 Comportamiento en el periodo de monitoreo (época seca, Enero 2015) del flujo de savia en plantas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales a partir del modelo de predicción bajo diferentes*

arreglos agroforestales: a. Multiestrato diversificado complejo (SMD), b. baja diversidad de árboles agregados (SAA), c. Alta densidad de musáceas (CP). Las líneas horizontales son la referencia del flujo de savia a 0 y 0.1 L hr⁻¹. Los símbolos y barras de error son el valor medio (+/- SE) entre días de V_s a la hora indicada. V_s: Flujo de savia observado, V_{s1}: Flujo de savia modelado. _____ 82

Figura 4-4 Relación entre V_s observada (eje X) versus el Vs modelada (eje Y) obtenidos mediante los modelos de predicción para cada arreglo agroforestal: a. Multiestrato diversificado complejo (SMD), b. baja diversidad de árboles agregados (SAA), c. Alta densidad de musáceas (CP). Las líneas horizontales y verticales son la referencia del flujo de savia a 0 y 0.1 L hr⁻¹. _____ 83

Figura 5-1 Parámetros de fluorescencia de la Chl_a derivadas de curvas de luz, a. tasa de transporte de electrones (J), b. rendimiento cuántico del PSII (Φ_{PSII}), c. coeficiente de quenching no fotoquímica (qNP), d. coeficiente de quenching fotoquímica (qP). _____ 108

Figura 6-1 Efectos directos e indirectos entre las variables climáticas e intercambio gaseoso bajo arreglos agroforestales. a. Modelo general, b. CP: Alta densidad de musáceas, c. SAA: baja diversidad de árboles agregados, d. SMD: Multiestrato diversificado complejo. Humedad relativa del aire (RH %), temperatura del aire (T_{air} °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa), Tasa neta de fotosíntesis (A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Concentración CO₂ intracelular (C_i $\mu\text{mol mol}^{-1}$), Concentración CO₂ ambiental (C_a $\mu\text{mol mol}^{-1}$), Conductancia estomatosa (g_s $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Tasa de Transpiración (E $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Eficiente Uso del Agua (WUE). _____ 126

Figura 6-2 Efectos directos e indirectos entre las variables climáticas y V_s, bajo los arreglos agroforestales. a. Modelo general, b. Alta densidad de musáceas CP, c. baja diversidad de árboles agregados SAA, d. Multiestrato diversificado complejo SMD. Humedad relativa del aire (RH %), temperatura del aire (T_{air} °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa), Flujo de Savia (V_s L hr⁻¹). _____ 127

Lista de tablas

<i>Tabla 2-1 28 variables caracterizadas en cada parcela y sus valores medios de las tipologías agroforestales evaluadas. 4 variables de diversidad, 6 de composición, 9 de estructura espacial vertical, 3 de estructura espacial horizontal y 4 de radiación transmitida.</i>	39
<i>Tabla 2-2 Lista de especies de árboles dentro de las diferentes tipologías de sombra de cacao bajo arreglos agroforestales. Los tipos son: Multiestrato diversificado complejo (SMD), Baja diversidad de árboles agregados (SAA), Baja diversidad de árboles regulares (SAR), Alta densidad de musáceas (CP).</i>	44
<i>Tabla 2-3 Índice de Valor de Importancia (IVI) e Índice de Predominio Fisionómico (IPF) para las especies de árboles en las diferentes tipologías de cacao bajo arreglos agroforestales. Los tipos son: Multiestrato diversificado complejo (SMD), Baja diversidad de árboles agregados (SAA), Baja diversidad de árboles regulares (SAR), Alta densidad de musáceas (CP).</i>	47
<i>Tabla 3-1 Fitted models to estimate expected values of weight and area of leaves of cacao (Theobroma cacao L.) as a function of the length and width of the leaves.</i>	59
<i>Tabla 3-2 Summary statistics for morphometric variables of leaves of Theobroma cacao L. The sample was taken to cover a wide range of leaf sizes.</i>	60
<i>Tabla 3-3 Summary of the six models evaluated to predict leaf weight. L, W, LL, WW, and LW are the regression coefficients corresponding to leaf length (L), leaf width (W), squared leaf length (LL), squared leaf width (WW), and the cross product of leaf length and leaf width (LW). Prediction mean square error (PMSE), and determination coefficient (R^2) are calculated on the validation data set.</i>	62
<i>Tabla 3-4 Summary of the six models evaluated to predict leaf area. L, W, LL, WW, and LW are the regression coefficients corresponding to leaf length (L), leaf width (W), squared leaf length (LL), squared leaf width (WW), and the cross product of leaf length and leaf width (LW). Prediction mean square error (PMSE) and determination coefficient (R^2) are calculated on the validation data set.</i>	62
<i>Tabla 4-1. Valores medios \pm E.E. de las variables ambientales durante el periodo de monitoreo bajo diferentes arreglos agroforestales y a distintas horas del día (horas oficiales UTC/GMT -5:00.): humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a, °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa). Los arreglos forestales son: Multiestrato diversificado complejo (SMD), Baja diversidad de árboles agregados (SAA), Alta densidad de musáceas (CP). Valores en una columna con letras distintas dentro de la misma franja horaria indican diferencias significativas entre arreglos forestales (post-hoc LSD Fisher tests, $p < 0.05$).</i>	76
<i>Tabla 4-2 Coeficientes de correlación entre V_s en plantas de cacao y las variables ambientales durante el periodo de monitoreo (época seca) bajo diferentes arreglos agroforestales: Multiestrato diversificado complejo (SMD), Baja diversidad de árboles agregados (SAA), Alta densidad de musáceas (CP). Las variables ambientales son: humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a, °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa). Todos los coeficientes de correlación fueron altamente significativos ($P < 0.0001$).</i>	79

<i>Tabla 4-3 Modelo obtenido de una serie de regresiones analizadas a partir de variables ambientales bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao en la Amazonía Colombiana. Multiestrato diversificado complejo (SMD), Baja diversidad de árboles agregados (SAA), Alta densidad de musáceas (CP). Las variables ambientales son: humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a, °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa).</i>	80
<i>Tabla 4-4 Coeficientes de modelo para la determinación del V_s usando las variables ambientales bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao en la Amazonia Colombiana como predictores. Multiestrato diversificado complejo (SMD), baja diversidad de árboles agregados (SAA), Alta densidad de musáceas (CP), humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a, °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa).</i>	81
<i>Tabla 5-1 Parámetros derivados de curvas respuesta fotosintética a la luz (A/PAR) y CO_2 (A/C_i), área foliar específica y pigmentos bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao: Alta densidad de musáceas (CP) que genera poco sombrío y permite paso de 95% de radiación ($1400.6 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$), Baja diversidad de árboles agregados (SAA) que genera sombrío medio, permite paso de 61% de radiación ($1200.8 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$) y Multiestrato diversificado complejo (SMD) que genera alto sombrío y permite paso de radiación de 28% ($680.4 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$). Los resultados muestran las medias $\pm(E.E)$. Valores en filas con distintas letras indican diferencias significativas entre arreglos agroforestales (post-hoc LSD LSD Fisher, $p < 0.05$).</i>	105
<i>Tabla 6-1 Representación simbólica de ecuaciones estructurales seleccionadas para modelar la relación entre variables de intercambio gaseoso y microclima.</i>	125
<i>Tabla 6-2 Representación simbólica de ecuaciones estructurales seleccionadas para modelar la relación entre el flujo de savia y el microclima.</i>	125
<i>Tabla 6-3 Parámetros estimados a partir de modelos de ecuaciones estructurales entre cada una de las variables ambientales en relación a fotosíntesis A y flujo de savia V_s, en árboles de cacao, bajo diferentes arreglos agroforestales. a. Modelo general, b. Alta densidad de musáceas CP, c. baja diversidad de árboles agregados SAA, d. Multiestrato diversificado complejo SMD. Humedad relativa del aire (RH %), temperatura del aire (T_{air} °C), la radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD, kPa), Tasa neta de fotosíntesis ($A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Concentración CO_2 intracelular ($C_i \mu\text{mol mol}^{-1}$), Concentración CO_2 ambiental ($C_a \mu\text{mol mol}^{-1}$), Conductancia estomática ($g_s \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Tasa de Transpiración ($E \text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Eficiente Uso del Agua ($\text{WUE} \mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), Flujo de Savia ($V_s \text{L hr}^{-1}$).</i>	129

Lista de Símbolos y abreviaturas

A: Tasa neta de fotosíntesis ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
A/Ci: respuesta fotosintética a la concentración interna de CO_2
A/PAR: respuesta de la tasa fotosintética a la intensidad de luz
ACP: Análisis de Componentes Principales
AFE: Área foliar específica
AIC: Información del Criterio de Akaike
 A_{max} : Tasa máxima de asimilación de carbono
BIC: Información del Criterio Bayesiano
BID: Banco Interamericano para el Desarrollo
Ca: Concentración de CO_2 ambiental ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
Car: Carotenoides
CFM-3: Módulo de fluorescencia de la clorofila
Ci: Concentración de CO_2 intracelular ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
 CO_2 : Dióxido de Carbono
CP: Tipología de cacao, Alta densidad de musáceas
Chl: Concentración de clorofila
Chl_a: Clorofila a
Chl_b: Clorofila b
DAP: Diámetro a la Altura del Pecho
E: Tasa de transpiración ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
 F'_m : Máximo rendimiento de fluorescencia en el estado adaptado a la luz
FEDECACAO: Federación de Cacaoteros
 F_v/F_m : Eficiencia máxima potencial fotoquímica del fotosistema II
GLA: Gap Light Analyzer
gs: conductancia estomática ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)
HRM: Método Pulso de Calor
IAF: Índice de Área Foliar
ICCO: The International Cocoa Organization
IPF índice de predominio fisionómico
IVI índice valor de importancia
J: transporte de electrones
 J_{max} : Máxima tasa de regeneración de RuBP controlada por el transporte de electrones
RD: Respiración en condiciones de luz
 k_n coeficiente de extinción de la luz
N: Concentraciones de Nitrógeno
 O_2 : Oxígeno
PAM: Pulso de amplitud modulada

PAR: Radiación Fotosintéticamente Activa
PAR_i Radiación Fotosintéticamente Activa Interceptada
PAR_t Radiación Fotosintéticamente Activa Transmitida
PCL: Punto de Compensación Lumínica
PFD: Densidad de Flujo de Fotones
PSL: Punto de Saturación Lumínica
qNP: quenching no fotoquímico
qP: quenching fotoquímico
R_{CE}: índice del vecino más cercano
R_d: Respiración en oscuridad
RH: Redistribución hidráulica
SAA: Tipología de cacao, baja diversidad de árboles agregados
SAR: Tipología de cacao, baja diversidad de árboles regulares
SEM: Modelos de ecuaciones estructurales
SexI-Fs: Spatially Explicit individual-based Forest-Simulator
SFM1: Medido de Flujo de Savia
SMD : Tipología de cacao, multiestrato diversificado complejo
V_{Cmax}: Tasa máxima de carboxilación
V_s = Flujo de Savia (L hr⁻¹)
WUE_e : Eficiente uso del agua extrínseco (μmol CO₂ /mmol⁻¹ H₂O)
Φ_{PSII}: rendimiento cuántico del PSII

1. Capítulo 1. Introducción general

El cacao (*Theobroma cacao* L., familia Malvaceae (Cuatrecasas, 1964) es uno de los cultivos perennes más importantes del mundo, utilizado principalmente para la obtención de chocolate, con una producción de 5 millones de toneladas de grano en el año 2016 (FOASTAT, 2016; ICCO, 2016). El cacao es nativo de bosques húmedos de la Amazonia (Motamayor et al. 2008) específicamente de la zona del río Caquetá (Baker et al. 1953) y se ha desarrollado bajo condiciones de sotobosque. Es una especie cuyas características fotosintéticas son de una planta que crece bajo sombra con bajo punto de compensación por luz (Mielke et al. 2005, Raja Harun y Hardwick, 1988 a, b, Hutcheon 1977) lo que se traduce en bajas tasas fotosintéticas (Daymond et al. 2011).

Para la producción de cacao se han implementado arreglos agroforestales con diferentes tipologías en función de su estructura y distribución de los árboles (Somarriba y Lachenaud, 2013; Deheuvels et al. 2012; Sambuichi et al. 2012; Asase y Tetteh, 2010; Somarriba y Harvey, 2003; Rice y Greenberg, 2000) con el objetivo de generar las condiciones de sombra en función de un adecuado desarrollo del cultivo y buen desempeño de la planta.

Los arreglos agroforestales asociados con el cultivo de cacao proveen algunas ventajas con respecto a los que se encuentran a pleno sol. En la amazonia bajo condiciones a pleno sol el nivel de radiación ($1519 \pm 11,81 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) puede afectar el fotosistema II del cacao, siendo el cacao altamente sensible a estrés por alta radiación (Baligar et al. 2008; Galyuon et al., 1996a, b; Serrano y Biehl, 1996) ya que se han reportado valores de saturación entre 200 a $750 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Almeida et al. 2014; Acheampong et al. 2013; Daymond et al. 2011; Rada et al. 2005; Da Matta et al. 2001; Miyaji et al. 1997; Raja Harun and Hardwick, 1988a, Hutcheon, 1976). Así mismo, las diferencias microclimáticas por factores como la temperatura, la humedad, el déficit de presión de vapor VPD, entre otras, tienen efecto en la apertura estomática y la movilidad del agua, por ende importantes implicaciones para el

desempeño del cultivo (Araque et al. 2012; Köhler et al. 2009; Rada et al. 2005; Almeida et al. 2002; Balasimha et al. 1991; Hernández et al. 1989).

Existen muchas respuestas bioquímicas que desarrolla la planta frente a condiciones de estrés ya sea por radiación o por déficit hídrico, u otras. En este sentido, cuando existe alta exposición a la radiación se aumenta la generación de especies reactivas del oxígeno ROS causando inhibición de algunas enzimas, degradación de la clorofila y la pérdida de funciones de orgánulos (Freitas et al, 2011). La acumulación de solutos como el iminoácido prolina, puede desempeñar roles importantes contra el daño oxidativo; su concentración aumenta notoriamente en condiciones de sequía ya que actúa como agente osmótico, protegiendo a la planta de la deshidratación (de la O-Quezada et al, 2011).

Con las condiciones climáticas actuales donde se han presentado fluctuaciones El Niño – La Niña los eventos de lluvias presentarán variaciones en cuanto a la intensidad y frecuencia; por tanto, puede existir un alto riesgo de sequías que pueden causar déficit hídrico en agroecosistemas como el cacao. Los arreglos agroforestales son una estrategia de adaptación al cambio climático. Se prevé que las sequías son más frecuentes y más graves y por ello con el fin de reducir la competencia por el agua entre árboles es necesario profundizar en qué tipo de arreglos se deben diseñar para lograr un óptimo nivel de radiación. Para ello se requiere realizar estudios que permitan explicar y correlacionar el comportamiento ecofisiológico de *Theobroma cacao* L. bajo diferentes arreglos agroforestales bajo las condiciones de la amazonia.

1.1 Estado del problema actual

De acuerdo con la oferta ambiental en muchas regiones de Colombia se presentan variaciones en relación a la radiación y brillo solar, que inciden en la estructura y composición de los arreglos agroforestales (distribución espacial) como en la producción de cacao. El cultivo del cacao por requerimientos fisiológicos se desarrolla bajo condiciones de radiación entre 200 a 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Almeida et al. 2014; Acheampong et al. 2013; Daymond et al. 2011; Rada et al. 2005; Da Matta et al. 2001; Raja Harun and Hardwick, 1988a, Hutcheon, 1976); presentando bajo punto de compensación de luz (Mielke et al. 2005, Raja Harun y Hardwick, 1988 a, b, Hutcheon 1977), baja tasa fotosintética que se encuentra alrededor de 1 a 8 $\mu\text{mol (CO}_2\text{) m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Almeida et al. 2014; Daymond et al. 2011; Baligar et al. 2008; Costa et al. 2001; Mielke et al. 2005; Balasimha

et al. 1991; Hutcheon 1977), situación que hace necesario analizar la importancia de los arreglos agroforestales sobre el crecimiento del cultivo del cacao en la amazonia.

El cultivo del cacao bajo condiciones de monocultivo puede presentar estrés por exceso de luz causando fotoinhibición (Baligar et al. 2008; Galyuon et al., 1996a, b; Serrano y Biehl, 1996) y disminución en su rendimiento y producción. Además, por las características propias de la estructura del monocultivo que afecta los niveles en el déficit de presión de vapor, temperatura (Daymond et al. 2002 a, b; Hernandez et al. 1989; Sena y Kozlowski, 1987), humedad (Sena et al. 1987) y radiación, puede ser afectado el cierre de los estomas y con ello la conductancia estomática, los niveles de CO₂ intercelular (Ci) y las tasas de absorción de CO₂. Así mismo, períodos de déficit de agua pueden causar estrés hídrico (Klich, 2000) y el consecuente bajo desempeño fisiológico en la planta.

Se han realizado diferentes estudios relacionados con el cultivo del cacao en donde han explicado la respuesta ecofisiológica en relación al déficit hídrico (Araque et al. 2012; Almeida et al. 2002; Balasimha et al. 1988), intercambio de gases (Ávila-Lovera et al. 2015; Almeida et al. 2014; Acheampong et al. 2013; Araque et al. 2012; Daymond et al. 2011; Almeida y Valle, 2002; Balasimha et al. 1991; Hernandez et al. 1989; Raja Harun y Hardwick K. 1988 a b; Hutcheon, 1977, 1976), flujo de savia (Köhler et al. 2014), nivel de radiación (Galyon et al. 1996b), uso de nutrientes (Ribeiro et al. 2008), crecimiento (Galyuon et al. 1996a; Miyaji et al. 1997); pero en general, no se ha explicado cuál es la incidencia de las estructuras agroforestales de cacao al modificar las condiciones microclimáticas sobre el flujo de savia y la fotosíntesis.

Las condiciones contrastantes de radiación que incrementa la evapotranspiración pueden aumentar el déficit hídrico en el cultivo causando daño oxidativo en la planta; sin embargo, ésta desarrolla mecanismos bioquímicos para contrarrestar el efecto de las especies reactivas del oxígeno ROS (Hessini et al. 2009; Moller et al. 2007), así mismo, mecanismos de protección fotoquímica y ajuste osmótico (Almeida et al., 2002). Un adecuado diseño de la estructura agroforestal puede afectar las condiciones micrometeorológicas, a su vez, la fisiología del cultivo y la producción (Deheuvels et al. 2012; Sambuichi et al. 2012). De acuerdo con lo anterior, se observa que es necesario determinar la influencia de los arreglos agroforestales y factores ambientales (radiación, temperatura, humedad, DVP) sobre el flujo de savia y consumo de agua, como la respuesta ecofisiológica en plantas de *Theobroma cacao* L. bajo condiciones de la amazonia colombiana.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 GENERAL

Evaluar la respuesta de la planta de *Theobroma cacao* L. cultivado bajo diferentes arreglos agroforestales en la Amazonia occidental colombiana.

1.2.2 ESPECÍFICOS

- Caracterizar las diferentes estructuras agroforestales y su impacto en el desarrollo de plantas de *Theobroma cacao* L. cultivado en la Amazonia occidental colombiana.
- Determinar la influencia de los arreglos agroforestales y factores ambientales sobre el flujo de savia y consumo de agua en plantas de *Theobroma cacao* L cultivado en la Amazonia occidental Colombiana.
- Establecer el efecto de los arreglos agroforestales sobre la respuesta ecofisiológica de plantas de *Theobroma cacao* L. cultivado en la Amazonia occidental Colombiana.
- Determinar el o los factores ambientales (radiación, temperatura, humedad, DVP) que más afecta la respuesta de las variables fisiológicas y de flujo de savia bajo los diferentes arreglos agroforestales.

2. Capítulo 2. Tipología de sistemas agroforestales de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Amazonia colombiana, basada en estructura espacial y radiación solar transmitida

2.1 Resumen

Se trabajó en 50 parcelas agroforestales de 2000m² cada una, en la zona del Bajo Caguán en el departamento del Caquetá-Colombia, en la Amazonia colombiana. En cada parcela se midieron variables de composición y estructura vertical de los agroforestales, y variables de organización espacial para modelar la distribución de luz en cada parcela, usando dos modelos: *Shademotion* y *Sexl-Fs*. Se utilizaron análisis de componentes principales y conglomerados para construir tipologías de parcelas usando una matriz compuesta de las diferentes variables medidas y simuladas. Se identificaron 4 tipos: multiestrato diversificado complejo (SMD, n=13), baja diversidad de árboles regulares (SAR, n=10), baja diversidad de árboles agregados (SAA, n=18), y alta densidad de musáceas (CP, n=9). Las diferencias a nivel de tipologías se presentaron en cuanto a la diversidad de especies de árboles (SMD=12.92, SAR=5.86, SAA=3.14, CP=3). La estructura espacial de los árboles del dosel de sombra fueron aleatorio en el SMD, regulares en el SAR, agregados en el SAA, sin árboles de sombra en el CP. El impacto de la estructura del dosel sobre el ingreso de luz i.e radiación transmitida en dosel del cacao fue SMD=680.4

$\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAR=820.3 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAA=1200.8 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, CP=1400.6 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$. Los tipos SAA y CP, facilitan un ingreso óptimo de luz para probablemente un buen desempeño ecofisiológico del cacao. Los sistemas agroforestales de cacao en la zona de la amazonia colombiana presentan diversidad de composición específica y de estructura espacial de la distribución de la radiación transmitida al dosel de cacao.

Palabras claves: riqueza de especies, índice Clark Evans, luz transmitida, análisis de conglomerados, *Theobroma cacao*.

2.2 Abstract

We worked in 50 agroforestry plots of 2000m² each, in the Bajo Caguán area in the department of Caquetá-Colombia, in the Colombian Amazon. In each plot variables of composition and vertical structure of the agroforestry were measured, and variables of spatial organization to model the distribution of light in each plot, using two models: Shademotion and Sexl-Fs. Principal component and conglomerate analyzes were used to construct parcel typologies using a matrix composed of the different measured and simulated variables. Four types were identified: complex diversified multi-layer (SMD, n = 13), low diversity of regular trees (SAR, n = 10), low diversity of aggregate trees (SAA, n = 18), and high density of musaceas (CP, n = 9). The differences at the level of typologies were presented as regards the diversity of tree species (SMD = 12.92, SAR = 5.86, SAA = 3.14, CP = 3). The spatial structure of the shade canopy trees was randomized in the SMD, regular in the SAR, aggregated in the SAA, without shade trees in the CP. The impact of the canopy structure on the entry of light ie radiation transmitted in cocoa canopy was SMD = 680.4 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAR = 820.3 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, SAA = 1200.8 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$, CP = 1400.6 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$. The types SAA and CP, facilitate an optimal entrance of light for probably a good ecophysiological performance of cocoa. The agroforestry systems of cocoa in the zone of the Colombian Amazon present diversity of specific composition and spatial structure of the distribution of the radiation transmitted to the cacao canopy.

Keywords: species richness, Clark Evans index, transmitted light, conglomerate analysis, *Theobroma cacao*.

2.3 Introducción

El cultivo del cacao es un cultivo de gran importancia a nivel mundial, con una producción de 4251 miles de toneladas de grano en el año 2016, en 9.9 millones de hectáreas y afectando los medios de vida de 40-50 millones de personas (ICCO, 2017). El 70% del cacao se cultiva en sistemas agroforestales en asocio con árboles que le generan sombrío y/o con cultivos anuales y perennes (Somarriba et al. 2012). En América Latina se cultivan 1.5 millones de hectáreas de cacao, de las cuales el 70% se cultivan bajo sombra en sistemas agroforestales (Somarriba et al. 2012). Siendo el cacao nativo de la amazonia, la producción anual en Latinoamérica en 2016 fue de 777 miles de toneladas de grano (18.3% de la producción mundial) inferior a la producción de cacao en África (3074 miles de toneladas de grano ICCO, 2017). A nivel de Latinoamérica, los mayores productores son Ecuador y Brasil (261 y 230 miles de toneladas de grano, respectivamente ICCO, 2017), en los otros países de Latinoamérica se redujo significativamente menor con la llegada de la Monilia (Phillips-Mora et al., 2007).

En Colombia específicamente, para el año 2016, el cultivo fue una actividad económica que cubrió 173016 ha, con una producción de 56785 toneladas de grano anual. Ahora, el cacao es considerado como el “cultivo para la paz”, i.e un cultivo de sustitución de cultivos ilícitos. Por ello, el departamento del Caquetá en Amazonia Colombiana ha incrementado su área de 555 ha en el 2007 a 1350 ha en el año 2016 (FEDECACAO, 2017). Sin embargo, pese a la importancia del cacao para Caquetá-Colombia no se han reportado estudios sobre las tipologías de arreglos agroforestales predominantes. Estos sistemas son desconocidos y hasta ahora no han sido descritos en la bibliografía.

El primer paso hacia una mejor gestión de los arreglos agroforestales es describirlos con precisión, y sobre todo tener en cuenta su variabilidad mediante la definición de diferentes tipos de arreglos. Este paso corresponde a un enfoque tipológico clásico, que puede abarcar mejor la variabilidad y el funcionamiento de sistemas complejos (Tomassone et al. 1993). Esta primera etapa de descripción permite una evaluación de la potencialidad de estos arreglos, y además da oportunidad para la generación de políticas de buen manejo, con el objetivo a largo plazo de optimizar el potencial productivo del cacao en Colombia y Latinoamérica.

En referencias de literatura se reconocen seis tipologías básicas de estructuras de arreglos agroforestales, que incluyen: cacao cultivado a pleno sol, bajo sombra especializada, bajo sombra diversificada, bajo sombra productiva, rústica y arreglo

agroforestal sucesional (Johns 1999, Moguel y Toledo, 1999; Rice y Greenberg, 2000; Somarriba y Lachenaud 2013). Estas tipologías de arreglos agroforestales se han reportado en Centroamérica (Deheuvels et al. 2012), Suramérica (Somarriba y Lachenaud, 2013), África (Sonwa et al. 2016; Oke y Odebiyi, 2007) y Asia (Kessler et al. 2005).

Las diferentes estructuras agroforestales difieren significativamente en la intercepción y transmisión de la radiación solar (Bisseleua et al. 2013; Mariscal et al. 2004), lo que afecta directamente el crecimiento y rendimiento del cacao. Por ello, cuantificar la competencia por la luz es un requisito previo para la comprensión del impacto de la sombra de los árboles en la productividad (Charbonnier et al., 2013; Gao et al., 2013). La sombra generada para el adecuado desarrollo del cultivo y buen desempeño fisiológico de la planta se obtiene bajo diferentes arreglos agroforestales (Somarriba y Lachenaud, 2013; Deheuvels et al. 2012; Sambuichi et al. 2012; Rice y Greenberg, 2000), basados en la estructura y la distribución espacial de los árboles sobre el terreno. Se ha reportado que bajo condiciones tropicales, la tasa fotosintética del cacao se satura a intensidades de radiación cercanas al 15% de la radiación a mediodía (Zuidema et al. 2005).

El manejo de la sombra en relación con la radiación transmitida es una variable importante para relacionar con la producción del cacao. La sombra también incide sobre la temperatura, humedad y el déficit de presión de vapor, entre otras, las cuales afectan la apertura estomática y la movilidad del agua, teniendo por ende importantes implicaciones para el desempeño del cultivo (Almeida et al. 2014) y la producción del cacao (Jezeer et al. 2017).

En este contexto, el trabajo tuvo como objetivo identificar y describir los diferentes sistemas cacaotales que se desarrollan en la región del Caquetá en la Amazonia Colombiana, a través de tipología de sistemas agroforestales de cacao, tomando en cuenta los doseles de sombra presentes.

2.4 Materiales y métodos

2.4.1 Área de estudio y selección de parcelas de muestreo

El estudio fue conducido en la zona del Bajo Caguán en el departamento del Caquetá-Colombia, en la Amazonia colombiana (0°31'06.5"N 74°23'05.0"W). El clima es bosque húmedo tropical con una precipitación anual promedio de 3800 mm, un brillo solar de 1700

horas año⁻¹, una temperatura promedio de 25.5°C y humedad relativa del aire del 84%. Se investigó la estructura agroforestal de cacaotales a lo largo del río Caguán entre las poblaciones de Santafé del Caguán, Camelias, Remolinos del Caguán y El Guamo, considerado frente de deforestación en la amazonia colombiana. Se seleccionaron 50 lotes de cacaotales bajo arreglos agroforestales, en las cuales se realizó una parcela de 2000 m² (100 x 20 m) en la parte central de cada lote ubicado en fincas pertenecientes a productores de la asociación de productores de cacao de Remolinos del Caguán y Suncillas CHOCAGUAN. El área de las fincas fue de 110 ha con tamaño de lotes bajo arreglos agroforestales de cacao de 4 ha. Estos lotes presentaron características contrastantes de manejo (composición de especies de árboles o plantas para sombrío, manejo de la sombra) y diversificación de árboles como dosel de sombra.

2.4.2 Variables para tipificación de estructuras espaciales agroforestales y radiación transmitida

Riqueza específica vegetal

En cada parcela se caracterizó la riqueza de especies de los árboles de sombra. Se determinó la composición botánica de las especies arbóreas y su abundancia en cada una de las parcelas. Para el análisis de la estructura de la población de árboles, se calculó la riqueza y diversidad de especies de árboles, expresada como el número de especies de árboles por parcela.

Estructura vertical y horizontal

La distribución vertical se realizó a nivel de parcela a diferentes alturas, alto (25-35 m), medio (9-24 m) y bajo (1-8 m) respecto al nivel del suelo (Somarriba, 2005), identificando taxonómicamente los individuos de los árboles (DAP>10), palmas y musáceas en cada parcela. Se evaluó el diámetro a la altura del pecho (DAP) de cada individuo, el área basal, la forma y el área de la copa tomando tres diámetros de su proyección sobre el suelo. Igualmente, se tomó en cuenta la estructura espacial a nivel horizontal (Ngo-Bieng et al., 2013); para caracterizar esta organización espacial horizontal de los individuos se notaron las posiciones (coordenadas X y Y de cada árbol en cada parcela) ubicando un punto de referencia medidas con una cinta métrica.

Radiación transmitida

Para tener una evaluación de la cantidad de radiación transmitida del dosel de árboles a los individuos de cacao, en cada parcela, se tomaron fotografías hemisféricas (Nikon Coolpix 4500 con lente hemisférico FC-E8, Nikon Co. Japón). La fotografía se tomó en cada punto cardinal de los árboles que conformaron el dosel de sombra teniendo en cuenta la coordenada de ubicación en cada parcela. Cada foto hemisférica se analizó mediante el software Gap Light Analyzer (GLA Frazer et al. 1999). Además, en cada punto se midió la intensidad de la Radiación Fotosintéticamente Activa (*PAR*, en $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) utilizando un sensor AcuPAR LP-80 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

2.4.3 Análisis de datos

Riqueza específica vegetal, estructura espacial vertical y horizontal en los sistemas agroforestales de la Amazonia colombiana

Para analizar la composición específica en cada parcela, se estimó la diversidad con base en la riqueza de especies y familias, utilizando los índices de Shannon y Simpson (Colwell, 2013). Se calculó el índice de valor de importancia IVI a partir de la abundancia relativa (%), dominancia relativa (%) y frecuencia relativa (%). Se utilizó el índice de predominio fisionómico IPF (Rangel y Avella, 2011) para explicar la complejidad de la estructura agroforestal la cual depende del área basal relativa (%), la cobertura relativa (%) y la densidad relativa (%) de los individuos encontrados en la parcela. Para caracterizar la distribución espacial horizontal de los árboles, se utilizó el índice del vecino más cercano (R_{CE} Clark y Evans 1954), para determinar la dispersión espacial de los árboles de dosel de sombra. Este índice R_{CE} describe la relación entre: (i) el promedio de las distancias entre cada árbol y su vecino más cercano en una parcela y (ii) el mismo promedio de distancia sobre una hipótesis nula de distribución aleatoria. La interpretación es: $R_{CE} > 1$ es regularidad; $R_{CE} = 1$ es aleatorio; $R_{CE} < 1$ es agregación (Hammer, 2009). Este índice no es a una distancia precisa, sino a la distancia del vecino más cercano. Es una medida de la desviación a una hipótesis nula de distribución aleatoria para una parcela, y es muy útil para detectar los cambios estructurales al nivel de la parcela. Para probar la hipótesis nula sobre la forma en que se distribuyen los árboles se utilizó un proceso aleatorio de poisson (Davis, 1986).

Radiación transmitida

A partir de las fotografías hemisféricas, se calculó el Índice de Área Foliar (*IAF* calculado de la relación entre el área foliar y el área del suelo) por parcela. Para cada árbol que genera sombra al cacao se estimó la fracción de interceptación de luz como el cociente entre las intensidades de *PAR* sobre y bajo el dosel del árbol. La fracción de interceptación de *PAR* por parcela se obtuvo promediando los valores estimados por árbol. Posteriormente, se construyó un mapa bidimensional de la distribución de *PAR* por parcela y se calculó el coeficiente de extinción de la luz por parcela por medio de la siguiente expresión:

$K(x, y) = e^{(PAR_t(x, y) / PAR_i(x, y)) / IAF(x, y)}$, donde (x, y) es la ubicación de cada punto en la parcela, PAR_t es la intensidad *PAR* bajo los árboles que generan sombra, PAR_i es la intensidad encima de los árboles y *IAF* es el índice de área foliar (Zhang et al. 2014).

Luego, se utilizaron dos modelos:

(i) *Shademotion 4.0* (Quesada et al. 2007) para calcular la fracción de horas sombra promedio en cada parcela agroforestal. *Shademotion* es un software construido para modelar las sombras que proyectan los árboles sobre un terreno plano, horizontal o inclinado (<http://shademotion.net/>).

(ii) Spatially Explicit individual-based Forest-Simulator *SEXI-FS* (Harja y Vincent, 2008) para calcular el grado de apertura del dosel. *SEXI-FS* es un simulador que se enfoca en las interacciones árbol-árbol en un arreglo agroforestal. El alto nivel de complejidad estructural de estos arreglos agroforestales tradicionales desafía los enfoques forestales clásicos cuando se trata de optimizar las prácticas de gestión (<http://www.worldagroforestry.org/output/sexi-fs-spatially-explicit-individual-based-forest-simulator>).

Tipología de las parcelas

Se realizaron tipologías de arreglos agroforestales basándose en una matriz de variables de caracterización, compuesta por 28 variables caracterizadas en cada parcela: 4 variables de diversidad, 6 de composición, 9 de estructura espacial vertical, 3 de estructura espacial horizontal y 4 de radiación transmitida (Tabla 2-1) a partir de un Análisis de Componentes Principales (PCA). Los ocho primeros componentes retuvieron el 85% de la variabilidad original y fueron los importantes según el criterio del autovalor medio. A partir

de los ocho componentes retenidos se realizó un análisis de conglomerados para la conformación de las tipologías. La cantidad de conglomerados conformados se decidió utilizando el criterio de la prueba gDGC (Valdano y Di Rienzo, 2007) con nivel de significancia de 0.05. Para identificar qué variables originales caracterizan mejor las tipologías encontradas por el análisis de conglomerados, se realizaron análisis de varianza univariados para cada una de las 28 variables usando las tipologías como criterio de clasificación. Los análisis de componentes principales, de conglomerado y de varianza se realizaron utilizando el programa *InfoStat* (Di Rienzo et al. 2017). El paquete *FactoMineR* (Husson et al., 2016) se usó para obtener los gráficos del agrupamiento jerárquico sobrepuesto al plano factorial compuesto por los dos primeros factores (hierarchical clustering on the factor map). Los gráficos de PCA se realizaron utilizando el paquete *Ade4* (Dray y Dufour, 2007) de R versión 3.4.0 (R Development Core Team, 2017).

2.5 Resultados

2.5.1 Tipologías de las parcelas estudiadas

El análisis PCA permitió identificar las variables más asociadas a cada tipología (Figura 2-1). El F1 explica el 48.37% de la varianza y separa el arreglo multiestrato diversificado complejo de los otros, lo que se atribuye a una complejidad tanto en composición específica como en la distribución espacial. El F2 (19.2%) separa la tipología alta densidad de musáceas del resto debido a su composición de individuos de musáceas y palmas. Se encontraron cuatro tipologías de acuerdo (Figura 2-2) a las diferentes variables estructurales de los cacaotales: i. Multiestrato diversificado complejo (SMD), ii. Baja diversidad de árboles regulares (SAR), iii. Baja diversidad de árboles agregados (SAA) y iv. Alta densidad de musáceas (CP). Las tipologías SAR y SAA, ambas con baja diversidad de especies arbóreas, se diferencian por el patrón espacial de distribución de los individuos. La prueba de Monte Carlo de permutaciones de las coordenadas de los puntos indica que la separación entre los arreglos es altamente significativa ($P < 0.001$) y explica el 36.8% de la varianza (Figura 2-3).

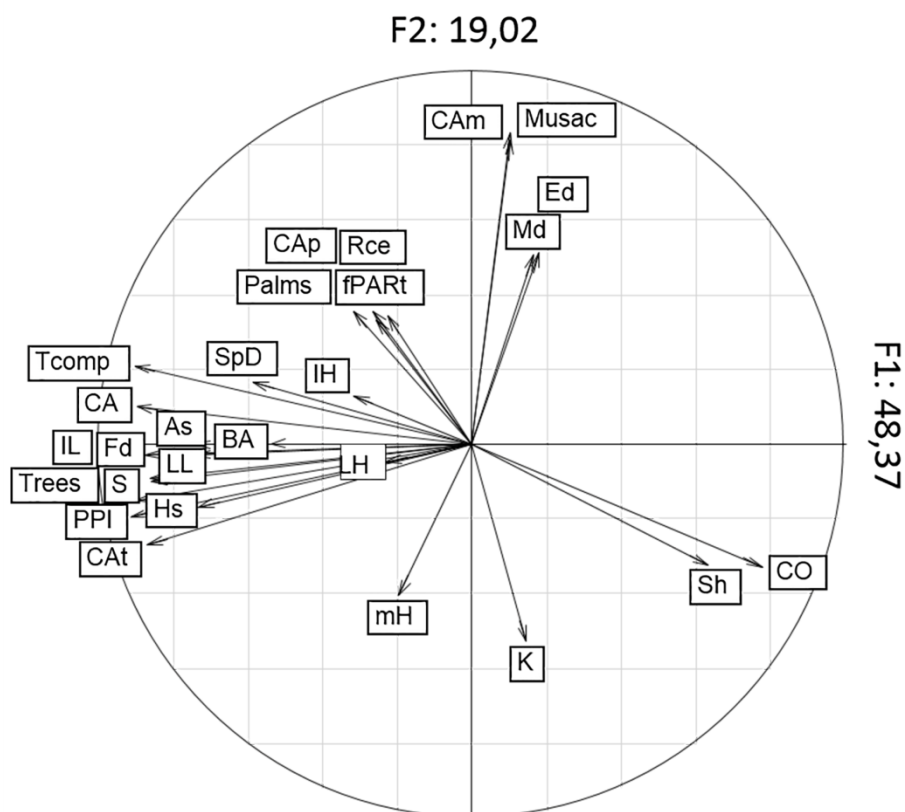


Figura 2-1 Ordenamiento de los arreglos agroforestales tipificados incluidos en el plano factorial de un análisis de componentes principales de las variables de composición, estructura espacial y distribución de la radiación. Las abreviaturas se encuentran en la tabla 2.1.

Multiestrato diversificado complejo (SMD), 13 parcelas.

La diversidad fue mayor comparado con las otras tipologías en función de las especies (una media de 12.92 especies sobre las 13 parcelas), familias e índices de diversidad (Tabla 2-1). Se presentaron especies exclusivas considerando esta tipología como arreglo agroforestal sucesional. Se encontraron en promedio sobre las 13 parcelas 302.5 ± 17.68 individuos/ha de los cuales 91.4% fueron árboles y el resto palmas (Tabla 2-1). En esta tipología no se presenta musáceas. La composición de individuos en relación con el estrato bajo (136.9 individuos por hectárea) y medio (153.14 individuos/ha) fue superior comparado con las otras tipologías (Tabla 2-1). El área basal (6.17 ± 1.12 m²/ha)

fue el doble en comparación a las otras tipologías, compuesta por árboles de gran tamaño (altura y área de copa) que se traduce en un mayor IPF (12.53). A nivel horizontal, los árboles se encuentran muy cerca, a distancia media de 2.41 m y de manera aleatoria ($R_{CE}=1$).

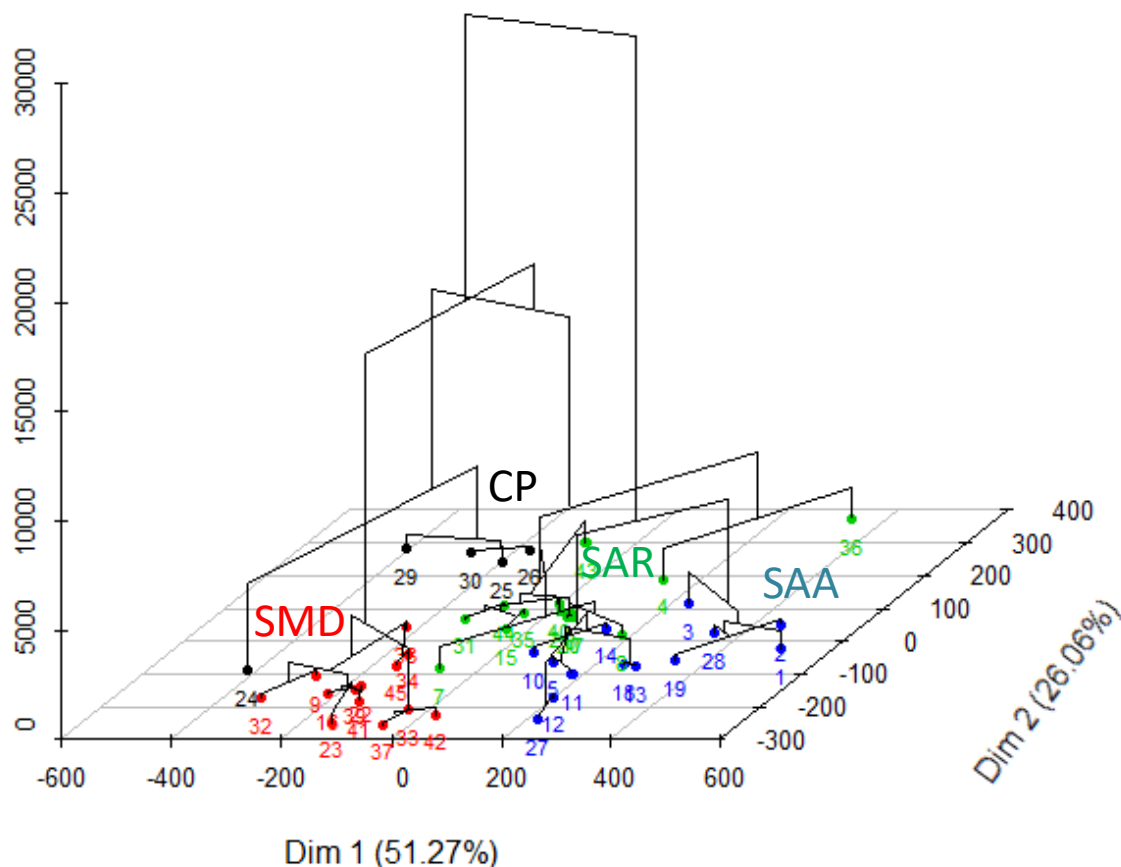


Figura 2-2 Análisis de clúster de las tipologías basados en los resultados de componente principal de las variables de composición, estructura espacial y distribución de la radiación. SMD: multiestrato diversificado complejo, SAR: baja diversidad de árboles regulares, SAA: baja diversidad de árboles agregados y CP: alta densidad de musáceas ($n=50$, $p<0.05$).

Baja diversidad de árboles regulares (SAR), 10 parcelas

La diversidad de especies en este arreglo es 5.86 ± 0.89 especies. La estructura de esta tipología está compuesta por 47.84 individuos en el estrato bajo y 48.31 individuos en el estrato medio (Tabla 2-1). El área basal encontrada fue de 3.74 ± 0.82 m²/ha con valor de

IPF de 4.45. La estructura espacial es regular ($R_{CE} > 1$), con distancia medias mayores de 3 m (Tabla 2-1).

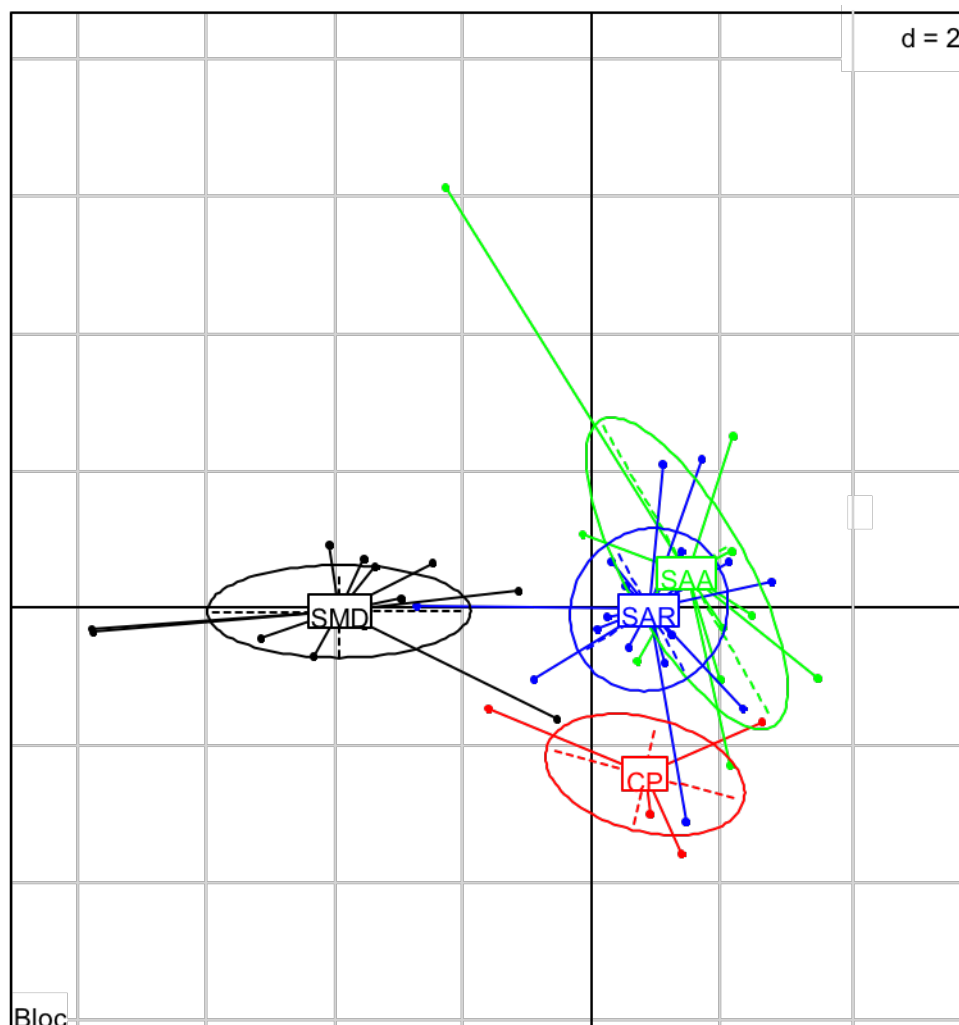


Figura 2-3 Ordenamiento de los arreglos agroforestales incluidos en la muestra $n=50$ en el plano definido por los dos primeros ejes. Las siglas correspondientes a los arreglos agroforestales muestreados se encuentran ubicadas en el centroide, SMD: multiestrato diversificado complejo, SAR baja diversidad de árboles regulares, SAA: baja diversidad de árboles agregados y CP: alta densidad de musáceas.

Tabla 2-1 28 variables caracterizadas en cada parcela y sus valores medios de las tipologías agroforestales evaluadas. 4 variables de diversidad, 6 de composición, 9 de estructura espacial vertical, 3 de estructura espacial horizontal y 4 de radiación transmitida.

Componente	Variable	Abraviatura	SMD	SAR	SAA	CP	General	p-valor
Diversidad	Riqueza de especies	S	12.92±0.96a	5.86±0.89b	3.14±0.89b	3±1.49b	6.14±0.74	<0.0001
	Familias	Fd	9.83±0.61a	4.86±0.57b	2.86±0.57c	2.6±0.95c	4.98±0.51	<0.0001
	Indice Shannon	Sh	3.19±0.13b	3.85±0.12a	3.95±0.12a	3.04±0.21b	3.65±0.08	0.0011
	Indice Simpson (1-D)	SI	0.76±0.04a	0.76±0.04a	0.59±0.04b	0.6±0.07b	0.64±0.03	<0.0001
Composición	Total	Tcomp	302.5±17.68a	106.43±16.37c	54.29±16.37d	194±27.39b	141.43±16.77	<0.0001
	Arboles	Trees	278.33±16.39a	95±15.18b	47.86±15.18b	38±25.4b	114.49±15.8	<0.0001
	Palmas	Palms	24.17±8.49ab	4.29±7.86b	6.43±3.25b	54±13.15a	14.49±4.5	<0.0001
	Musaceas	Musac		7.14±6.04b		102±10.11a	12.45±5.3	<0.0001
	Estrato bajo	LL	136.9±17.8a	47.84±7.42b	27.4±6.71c	32.5±13.14bc	62.73±8.71	<0.0001
	Estrato intermedio	IL	153.14±18.42a	48.31±10.76b	41.4±20.64b	37.5±21.42b	70.81±10.42	<0.0001
Estructura								
Vertical	Area basal	BA	6,17±1,12a	3,74±0,82b	3,21±1,54bc	2,36±1,1c	3,94±0,68	0,045
	Altura (media)	mH	8.31±0.36a	6.8±0.36b	9.02±0.39a	6.73±0.6b	7.97±0.24	<0.0001
	Altura (estrato bajo)	LH	6.59±0.52a	6.8±0.36ab	5.63±0.49ab	4.53±0.81b	5.66±0.31	0,045
	Altura (estrato medio)	IH	9.94±0.73ab		10.57±0.68a	10.04±1.14ab	9.22±0.43	<0.0001
	Area de copa (total)	CA	626.60±38.06a	231.17±23.16c	274.17±38.35c	438.36±90.88b	348.82±31.01	<0.0001
	Arboles	CA _t	577.89±48.21a	206.13±22.36b	246.18±37.97b	142.67±41.05b	291.56±29.96	<0.0001
	Palmas	CA _p	48.71±17.29ab	9.83± 6.25b	27.99±15.93b	118.98±80.00a	34.88±10.77	<0.0001
	Musaceas	CA _m		15.21± 8.16b		176.71±49.10a	22.38± 9.11	<0.0001
	Indice de predominio fisionómico	PPI	12.53±0.79a	4.45±0.73b	4.62±0.73b	3.42±1.22b	6.12±0.65	<0.0001

40 Comportamiento ecofisiológico de *Theobroma cacao* L. en diferentes arreglos agroforestales bajo condiciones de la amazonia colombiana

Horizontal	Distancia media	Md	2.41±1.21b	3.3±1.12b	4.31±1.12b	8.73±1.87a	3.98±0.66	<0.0001
	Distancia esperada	Ed	2.35±1.06b	3.11±0.98b	3.4±0.98b	7.65±1.64a	3.5±0.58	0,0169
	Indice del vecino más cercano	RCE	1±0,03c	1,32±0,05a	0,9±0,03d	1,21±0,05b	1,12±0,04	<0.0001
Radiación	Radiación transmitida	fPARt	680.4±60.1c	820.3±220.8c	1200.8±80.6b	1400.6±100.2a	1025.5±115.4	<0.0001
	Coefficiente de extincion de luz	Kn	4.41±0.64b	5.88±0.59b	2.89±0.59a	2.58±0.99a	4.36±0.39	<0.0001
	Sombra (área)	As	4836.67±69.72a	3833.43±161.16b	3627.65±274.95b	2799.20±61.13ab	3776.06±146.58	<0.0001
	Sombra (horas año ⁻¹)	Hs	325.57±24.55a	166.2±12.63b	167.9±22.73b	109.62±38.03b	204.27±15.48	0.0006
	Apertura del dosel	CO	31.42±1.49b	58.64±3.72a	67.93±5.26a	78.45±6.54b	59.11±6.68	<0.0001

Los valores representan la media ± desviación estandar. El valor P muestra diferencias significativas entre los arreglos agroforestales en la amazonia colombiana. Los arreglos forestales son: *Multiestrato diversificado complejo* (SMD), *baja diversidad de árboles regulares* (SAR), *baja diversidad de árboles agregados* (SAA), *Alta densidad de musáceas* (CP). Valores en una columna con letras distintas indican diferencias significativas entre arreglos forestales (post-hoc LSD Fisher tests, $p < 0.05$).

Baja diversidad de árboles agregados (SAA), 18 parcelas

Esta tipología presentó la más baja diversidad representada en especies que conforman el dosel con 3.14 ± 0.89 especies. En relación con el estrato bajo (27.4 individuos por hectárea) y medio (41.4 individuos por hectárea) fue inferior comparado con las otras tipologías (Tabla 2-1). Al existir menos presencia de árboles, se encontró mayores alturas de dosel (9.02 ± 0.39 m). Se encontró un área basal de 3.21 ± 1.54 m²/ha, con IPF de 4.62. A nivel horizontal, los árboles se encuentran a distancias mayores de 4 m y de manera agregada ($R_{CE} < 1$ Tabla 2-1).

Alta densidad de musáceas (CP), 9 parcelas.

La riqueza en esta tipología es baja en especies (3 especies), compuesta por 32.5 individuos en el estrato bajo y 37.5 individuos en el estrato medio (Tabla 2-1). Se encontró un área basal de 2.36 ± 1.1 m²/ha, con IPF de 3.42. A nivel horizontal, los árboles se encuentran distantes (8.73 m) y de manera aleatoria ($R_{CE} = 1$ Tabla 2-1).

2.5.2 Riqueza de árboles en los arreglos agroforestales de la Amazonia colombiana

La composición de especies de árboles varió con respecto al dosel y tipología del cacaotal. En total se encontraron 40 familias, 112 géneros y 139 especies de árboles (4% sin identificar), de los cuales se encontraron en total 15, 35 y 70 especies en los arreglos SAR, SAA y SMD, respectivamente, existiendo 8, 25 y 55 especies exclusivas para el arreglo SAR, SAA y SMD, respectivamente (Tabla 2-2). En la Tabla 2-3 se muestra el IVI e IPF para las diferentes especies que conformaron los doseles de sombra en arreglos agroforestales de cacao, 30 especies representaron 204.5% y 229.5% para IVI y IPF, respectivamente. En la categoría “otras” (Tabla 2-3), se encuentran 109 especies de árboles las cuales indican menor dominio florístico. A nivel general, las especies con mayor importancia ecológica, independientemente del tipo de arreglo agroforestal, fueron *Inga minutula*, *Sapium marmieri*, *Spondias mombim* L, *Hieronyma alchorneoides*, *Psidium guajava* L y *Swietenia macrophylla* que representan 109% y 132% del total para IVI y IPF, respectivamente. A nivel de tipología, *Sapium marmieri*, *Hieronyma alchorneoides* e *Inga minutula* fueron las más representativas en IVI para SMD, SAA y SAR, respectivamente. En el caso de IPF, *Inga minutula*, *Hieronyma alchorneoides* e *Inga minutula* fueron las más representativas en SMD, SAA y SAR, respectivamente (Tabla 2-3).

2.5.3 Radiación transmitida

La interceptación de radiación se ve afectada por la estructura del arreglo agroforestal. Bajo la cubierta de los árboles, la distribución de la luz se afectó por las copas existiendo diferencias entre los arreglos en cuanto a k_n . La relación existente entre las variables de estructura vertical incidió sobre la apertura del dosel y esta última sobre la fracción de la radiación transmitida ($fPARt$), como también en la sombra (m^2 y horas $año^{-1}$). La modelación realizada en el simulador espacial *SExI-FS* y *Shademotion* se esquematizó en cada una de las tipologías y también se obtuvo la radiación transmitida usando una escala de grises (Figura 2-4), donde mayor intensidad equivale a mayor sombrío y viceversa. En este sentido, se presenta la variabilidad en el ingreso de luz en los diferentes tipos. El ingreso de la luz (radiación transmitida $PARt$) entre la tipología con mayor sombra (Multiestrato diversificado complejo, SMD) y la menor (Alta densidad de musáceas, CP) aumentó un 52.4% (680.4 vs 1400.6 $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$, respectivamente). Al analizar la complejidad de las estructuras agroforestales, ésta se relaciona con el índice de predominio fisionómico, se observa que incide sobre la radiación disponible para el cultivo. La utilidad de este índice radica en la relación de las variables estructurales del arreglo agroforestal para optimización de luz para el cultivo del cacao.

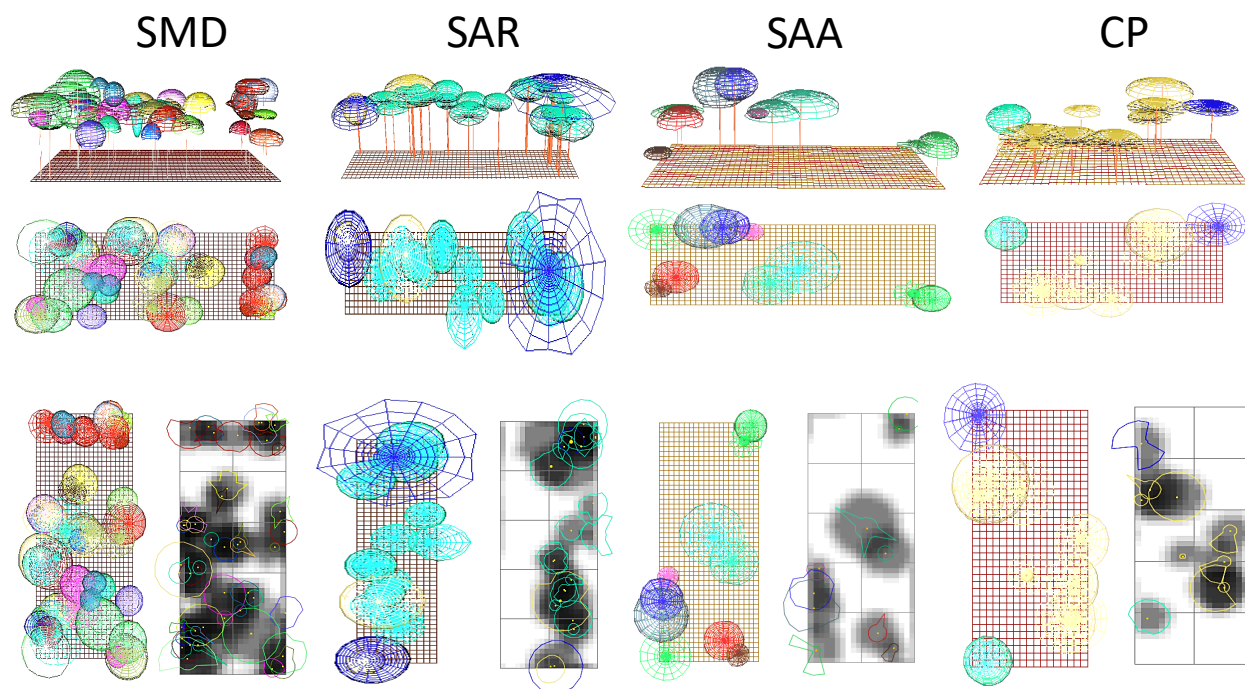


Figura 2-4 Distribución horizontal y perfil vertical en una parcela típica de cada tipología cacaotera, modelación realizada en el simulador espacial *SExI-FS* y *Shademotion*. La radiación

transmitida se expresa en escala de grises donde mayor intensidad indica mayor sombrío. SMD: multiestrato diversificado complejo, SAR complejo baja diversidad de árboles regulares, SAA: complejo baja diversidad de árboles agregados y CP: alta densidad de musáceas.

Tabla 2-2 Lista de especies de árboles dentro de las diferentes tipologías de sombra de cacao bajo arreglos agroforestales. Los tipos son: *Multiestrato diversificado complejo* (SMD), *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA), *Baja diversidad de árboles regulares* (SAR), *Alta densidad de musáceas* (CP).

Tipología	Estrato	Especies más frecuentes	Especies exclusivas			
SMD (n=13)	Bajo	<i>Cecropia ficifolia</i> Warb. ex Snethl.	<i>Anacardium cf. Parvifolium</i>	<i>Picramnia</i> sp.		
		<i>Cecropia sciadophylla</i> Mart.	<i>Andira cf. multistipula</i> Ducke	<i>Piper aduncum</i> L.		
		<i>Citrus reticulata</i> Blanco	<i>Apeiba aspera</i> Aubl.	<i>Piptocoma discolor</i> (Kunth) Pruski		
		<i>Cordia alliodora</i> (Ruiz & Pav.) Oken	<i>Bellucia pentamera</i> Naudin	<i>Platymiscium stipulare</i> Benth.		
		<i>Fabaceae</i> sp1	<i>Calyptranthes cf. lanceolata</i> O. Berg	<i>Pouteria cf. caimito</i> (Ruiz & pav.) Randlk		
		<i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão	<i>Clitoria cf. javitensis</i> (Kunth) Benth.	<i>Rinorea</i> sp. 1		
		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	<i>Coccoloba</i> sp. 1	<i>Rollinia edulis</i> Triana & Planch		
		<i>Psidium guajava</i> L.	<i>Colubrina glandulosa</i> Perkins	<i>Sapium</i> sp. 1		
		<i>Sapium eglandulosum</i> Ule	<i>Diploptropis martiusii</i> Benth.	<i>Siparuna guianensis</i> Aubl.		
		<i>Sapium marmieri</i> Huber	<i>Eschweilera coriacea</i> (DC.) S.A. Mori	<i>Sorocea cf. pubivena</i> Hemsl.		
		<i>Spondias mombim</i> L.	<i>Gloeospermum longifolium</i> Hekking	<i>Tabebuia</i> sp. 1		
			<i>Grias cf. peruviana</i> Miers	<i>Talisia cf. hemidasys</i> Radlk.		
			<i>Hamelia patens</i> Jacq.	<i>Tetrathylacium macrophyllum</i> Poepp.		
			<i>Himatanthus tarapotensis</i> (K. Schum. ex Markgr.) Plumel	<i>Theobroma bicolor</i> Bonpl.		
			<i>Inga</i> sp. 1			
			<i>Isertia hypoleuca</i> Benth.			
			<i>Miconia trinervia</i> (Sw.) D. Don ex Loudon			
			<i>Palicourea</i> sp.1			
			Intermedio	<i>Acalypha cf. stachyura</i> Pax	<i>Annona</i> sp. 1	<i>Palicourea lasiantha</i> K. Krause
				<i>Cecropia ficifolia</i> Warb. ex Snethl.	<i>Brosimum cf. lactescens</i> (S. Moore) C.C. Berg	<i>Pentagonia macrophylla</i> Benth.
<i>Cecropia sciadophylla</i> Mart.	<i>Brownea macrophylla</i> horn. ex Mast.			<i>pentagonia</i> sp. 1		

		<i>Ficus insipida</i> Willd.	<i>Casearia javitensis</i> Kunth	<i>Protium cf. glaberscens</i> Swart
		<i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão	<i>Chimarrhis glabriflora</i> Ducke	<i>Sapium glandulosum</i> (L.) Morong
		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	<i>Coccoloba mollis</i> Casar.	<i>Siparuna decipiens</i> (Tul.) A. DC.
		<i>Pentagonia macrophylla</i> Benth.	<i>Conceveiba</i> sp. 1	<i>Solanum altissimum</i> Benítez
		<i>Sapium eglandulosum</i> Ule	<i>Croton matourensis</i> Aubl.	<i>Spondias</i>
		<i>Sapium marmieri</i> Huber	<i>Jacaratia digitata</i> (Poepp. & Endl.) Solms	<i>Theobroma glaucum</i> H. Karst
		<i>Spondias mombim</i> L.	<i>Miconia cf. floribunda</i> (Bonpl.) DC.	<i>Viola duckei</i> A.C. Sm.
		<i>Swietenia macrophylla</i> King	<i>Moraceae</i> sp2	<i>Xylopia cf. amazonica</i> R.E. Fr.
SAA (n=18)	Bajo	<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	<i>Alchornea latifolia</i> Sw.	<i>Sapium peruvianum</i> Steud.
		<i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão	<i>Alibertia</i> sp. 1	<i>Schefflera morototoni</i> (Aubl.)
		<i>Inga cayennensis</i> Sagot ex Benth.	<i>Andira cf. multistipula</i> Ducke	<i>Maguire, Steyer. & Frodin</i>
		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	<i>Asteraceae</i> sp.1	<i>Tetragastris panamensis</i> (Engl.) Kuntze
		<i>Spondias mombim</i> L.	<i>Billia rosea</i>	<i>Urera caracasana</i> (Jacq.) Gaudich. ex Griseb.
		<i>Swietenia macrophylla</i> King	<i>Citrus sinensis</i>	
			<i>Condaminea</i> sp. 1	
			<i>Crescentia cujete</i> L.	
			<i>Morinda citrifolia</i> L.	
			<i>Prunus accumulans</i> (Koehne) C.L. Li & Aymard	
	Intermedio	<i>Beilschmiedia</i> sp.1	<i>Alchornea glandulosa</i> Poepp.	<i>Parkia cf. velutina</i> Benoist
		<i>Guarea fissicalyx</i> Harms	<i>Allophylus floribundus</i> (poepp) Randlk	
		<i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão	<i>Chrysophyllum</i> sp. 1	
		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	<i>Citrus nobilis</i> Lour	
		<i>Psidium guajava</i> L.	<i>Fabaceae</i> sp2	
		<i>Sapium marmieri</i> Huber	<i>Ficus</i> sp. 1	
		<i>Swietenia macrophylla</i> King	<i>Inga</i> sp. 3	
SAR (n=10)	Bajo	<i>Acalypha diversifolia</i> Jacq.	<i>Allophylus</i> sp. 1	

		<i>Cecropia latiloba</i> Miq.	<i>Bauhinia tarapotensis</i> Benth.
		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	<i>Campsiandra cf. steyermarkiana</i> Stergios
		<i>Spondias mombim</i> L.	<i>Dialium guianense</i> (Aubl.) Sandwith
		<i>Swietenia macrophylla</i> King	<i>Inga sp. 6</i>
Intermedio		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	<i>Grias neuberthii</i> J.F. Macbr.
		<i>Sapium marmieri</i> Huber	<i>Micropholis guyanensis</i> (A.DC.) Pierre
			<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) A. DC.
CP (n=9)	Bajo	<i>Psidium guajava</i> L.	
		<i>Spondias mombim</i> L.	
		<i>Swietenia macrophylla</i> King	
	Intermedio	<i>Albizia sp. 1</i>	
		<i>Asteraceae sp.1</i>	
		<i>Enterolobium schomburgkii</i> (Benth.) Benth.	
		<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	
		<i>Spondias mombim</i> L.	

Tabla 2-3 Índice de Valor de Importancia (IVI) e Índice de Predominio Fisionómico (IPF) para las especies de árboles en las diferentes tipologías de cacao bajo arreglos agroforestales. Los tipos son: Multiestrato diversificado complejo (SMD), Baja diversidad de árboles agregados (SAA), *Baja diversidad de árboles regulares* (SAR), Alta densidad de musáceas (CP).

Especies	General		IVI				IPF			
	IVI	IPF	SMD	SAA	SAR	CP	SMD	SAA	SAR	CP
<i>Inga minutula</i> (Schery) T.S. Elias	33.63	51.54	21.62	25.23	63.6	152.91	21.81	20.88	65.67	114.94
<i>Sapium marmieri</i> Huber	19.51	19.8	27.2	16.29	20.56	0	18.01	7.88	11.81	0
<i>Spondias mombim</i> L.	18.73	19.92	19.75	17.05	20.37	62.51	15.7	10.73	10.85	35.56
<i>Hieronyma alchorneoides</i> Allemão	16.24	18.21	16.3	32.23	0	0	12.44	29.88	0	0
<i>Psidium guajava</i> L.	11.37	10.81	6.76	16.22	0	0	3.62	15.72	0	0
<i>Swietenia macrophylla</i> King	9.58	11.78	3.99	18.31	17.78	0	3.9	23.79	12.6	0
<i>Ficus insipida</i> Willd.	7.92	6.97	13.31	4.04	4.94	0	7.73	2.15	2.45	0
<i>Miconia cf. floribunda</i> (Bonpl.) DC.	6.21	8.94	1.31	0	0	0	0.82	0	0	0
<i>Acalypha cf. stachyura</i> Pax	5.81	5.7	3.44	6	8.84	34.59	2.8	2.71	4.57	16.63
<i>Cecropia ficifolia</i> Warb. ex Snethl.	5.42	5.22	11.15	0	0	0	8.32	0	0	0
<i>Cecropia sciadophylla</i> Mart.	5.29	6.45	10.48	0	0	0	11.92	0	0	0
<i>Ficus</i> sp. 1	4.88	5.23	0	16.65	0	0	0	4.27	0	0
<i>Guatteria coeloneura</i> Diels	4.65	7.07	1.52	0	0	0	0.98	0	0	0
<i>Sapium eglandulosum</i> Ule	4.48	5.41	7.69	0	0	0	8.72	0	0	0
<i>Croton matourensis</i> Aubl.	4.41	5.03	10.87	0	0	0	3.65	0	0	0
<i>Cordia alliodora</i> (Ruiz & Pav.) Oken	4.28	4.37	1.88	2.08	0	0	1.59	1.3	0	0
<i>Cassia</i> sp. 1	4.14	4.83	1.58	0	23.48	0	1.02	0	11.43	0
<i>Guarea fissicalyx</i> Harms	4.06	3.91	1.16	12.32	0	0	0.81	7.44	0	0
<i>Ceiba cf. samauma</i> (Mart.) K. Schum.	3.75	2.22	2.64	4.38	0	0	1.14	2.18	0	0
<i>Leonia crassa</i> L.B. Sm. & A Fernandez	3.41	2.83	1.72	9.21	0	0	0.8	3.63	0	0
<i>Vitex orinocensis</i> Kunth	3.05	2.69	2.13	2.14	6.89	0	1.38	1.48	4.63	0
<i>Beilschmiedia</i> sp. 1	3.02	3.37	2.75	6.19	0	0	1.76	5.42	0	0
<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck	2.93	1.8	1.09	6.24	0	0	0.51	3.23	0	0
<i>Acalypha diversifolia</i> Jacq.	2.85	2.19	2.66	2.02	9.32	0	1.78	1.19	8.28	0
<i>Heliocarpus americanus</i> L.	2.81	2.57	2.37	6.2	0	0	1.41	3.2	0	0
<i>Jacaranda copaia</i> (Bertol.) A. DC	2.79	3.03	0	3.76	13.09	0	0	3.42	5.51	0
<i>Cecropia latiloba</i> Miq.	2.58	1.63	1.29	4.37	7.12	0	0.67	2.1	5.18	0
<i>Trema micrantha</i> (L.) Blume	2.36	2.24	3.56	2	0	0	3.74	1.12	0	0
Otras	200.18	225.76	180.21	212.94	195.99	250.01	137.03	153.72	142.97	167.13

2.6 Discusión

Las tipologías encontradas se construyeron tomando en cuenta variables clásicas de composición específica y de estructura vertical (Sonwa et al. 2016; 2007; Deheuvels et al. 2012) así como la inclusión de nuevas variables para el modelamiento utilizando aquellas de: i. Estructura horizontal de los doseles de sombra (Gidoín et al. 2014a, b; Ngo-Bieng et al. 2013, 2006) y ii. Distribución de la radiación transmitida al dosel de cacao. Se identificaron 4 tipos: multiestrato diversificado complejo, baja diversidad de árboles regulares, baja diversidad de árboles agregados, y alta densidad de musáceas. Las diferencias a nivel de tipologías se presentan en cuanto a: i. Composición, la diversidad de especies de árboles varió en relación con la complejidad del arreglo, existiendo especies exclusivas por cada arreglo. ii. La estructura espacial favoreció la diversidad de especies, generando nichos espaciales para el desarrollo de las especies dando lugar a múltiples estratos y distribuciones de los árboles (agregados, regulares, aleatorios Ngo-Bieng et al. 2013). iii. La radiación transmitida se relaciona con la estructura del dosel (Mariscal et al., 2004) dado que es irregular y discontinuo incidiendo sobre la distribución espacial de la luz (Xue et al. 2015). Esto demuestra claramente que la estructura del dosel influye significativamente en la distribución de la luz y la interceptación de luz en el dosel del cacao.

Los arreglos agroforestales de cacao en la amazonia presentaron una alta diversidad de especies de árboles, siendo SMD el más diverso en comparación con las otras tipologías. Estos arreglos de cacaotales además de ser espacios de producción son áreas para conservación vegetal. La conservación de la diversidad vegetal bajo arreglos agroforestales de cacao es el resultado del manejo dado por los productores para la generación de sombra. Por dinámica del manejo de los cacaotales, la estructura del dosel la conformaron especies seleccionadas por el productor. En general, los arreglos agroforestales de cacao son conocidos como complejos, i.e asociados a una gran diversidad de especies vegetales forestales o introducidas. Es un manejo agroforestal dinámico y sucesional, dado a la necesidad de sombra para desarrollarse; pues en diferentes regiones del mundo, los arreglos agroforestales de cacao presentan gran diversidad específica, asociada a la presencia de árboles de sombra los cuales varían de acuerdo con su diseño, composición y estructura.

Por ejemplo, se ha encontrado una alta variabilidad en la composición con 280 especies de árboles para Brasil (Sambuichi et al. 2012), 237 especies para Costa de Marfil (Tondoh et al. 2015) e Indonesia (Steffan-Dewenter et al. 2007), Camerún con 205 especies (Mbolo et al. 2016;

Sonwa et al. 2016), Ghana con 196 especies (Asase et al. 2010) y alrededor de 53 especies de árboles en Costa Rica (Deheuvels et al. 2012). Sin embargo, en las tipologías encontradas en el presente estudio, se presenta en la tipología *Baja diversidad de árboles regulares*, los cuales son parecidos a los catalogadas como “cacao manejado” de manera intensiva con sombra especializada, especies como *Cordia alliodora* e *Inga spp.* Esta situación es característica de sistemas “nuevos” o de “proyecto” de cacaotales de Centroamérica, que presentan una diversidad específica baja (Cerdeira et al. 2014; Ngo-Bieng et al. 2013; Deheuvels et al. 2012). En los datos analizados en el presente estudio, se encontraron 14 parcelas de las 50 caracterizadas en la zona de la amazonia. Una perspectiva de investigación y de manejo será asegurarse que esta diversidad no se pierda durante el desarrollo de este cultivo en la región de la Amazonia.

Entre los estudios de caracterización de la estructura de la vegetación en arreglos agroforestales, sólo unos pocos han estudiado de manera conjunta la estructura espacial considerando la distribución vertical y horizontal de los árboles, palmas y musáceas del dosel de sombra (Gidoín et al. 2014 a, b; Ngo-Bieng et al 2013, 2006). Además de variables de estructura vertical y horizontal, el presente estudio incluye en su tipificación la radiación transmitida a los individuos de cacao. Particularmente, la región de la Amazonia colombiana, se caracteriza por tener altos niveles de nubosidad lo cual reduce la disponibilidad de radiación por la cantidad de horas luz (3.5 horas); por ello, es importante caracterizar el nivel de radiación disponible para el cultivo del cacao para así diseñar estructuras eficientes que optimicen el desarrollo ecofisiológico del cacao y su producción, y además minimizar condiciones para el desarrollo de plagas y enfermedades al incrementar el umbral de sombra (Gidoín et al. 2014b).

En el presente trabajo, se evaluó la radiación transmitida al cacao usando dos metodologías: i. Fotos hemisféricas (cálculo del Índice de Área Foliar) y medidas de *PAR* para el cálculo del coeficiente de extinción de la luz. ii. Simulación de la fracción de horas sombra promedio en cada parcela agroforestal con el modelo *Shademotion* y el grado de apertura del dosel usando el modelo *SExI-FS*. Para esto, se consideró la distribución espacial horizontal en la cual se asegura tener en cuenta la relación entre la organización de los individuos en el espacio y la distribución espacial de la radiación transmitida. La intensidad y la distribución espacial de la radiación son características importantes que dependen de la composición y de la estructura de los arreglos agroforestales y que influyen en el funcionamiento de las plantas de cacao, específicamente en el comportamiento ecofisiológico y la producción. Además, influyen sobre la diversidad de las especies que conforman el dosel inferior (Ngo-Bieng et al, 2013; Tadu et al. 2014; Babin et al. 2010).

Modelos para analizar la heterogeneidad de estructuras agroforestales enfocados hacia el manejo de la radiación son pocos; por ello, la importancia de este estudio radica en la propuesta metodológica considerando la relación interespecífica de los componentes de los arreglos teniendo en cuenta variables de distribución vertical y horizontal para determinar y calcular los umbrales de sombra. A partir de los resultados sobre la distribución espacial de las intensidades de luz, los coeficientes de extinción afectados por el sombreado de los árboles y basados en las tipologías aquí presentadas; este enfoque metodológico proporciona una herramienta que podría ser útil para optimizar el uso de la luz y la productividad en un sistema agroforestal. Se ha desarrollado un proceso metodológico para generar tipificaciones y específicamente para modelar la radiación transmitida utilizando diferentes simuladores (*SEXI-FS* y *Shademotion*) para predecir la competencia de la luz en los arreglos, encontrando que la diversidad, composición y estructura (horizontal y vertical) incide sobre variables de luz transmitida como la distribución de la radiación fotosintéticamente activa transmitida, área y horas de sombra como también la extinción de la luz (Kn). Estas variables de intensidad y cantidad de luz muy probablemente afectan el comportamiento fisiológico y la producción del cacao. Igualmente se observó que las tipologías más diversas limitan la luz transmitida para un buen desarrollo del cultivo y que las menos diversas como la tipología CP muy seguramente favorecerán el rendimiento y producción del cacao.

2.7 Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con la colaboración financiera de COLCIENCIAS mediante fondos BID en el marco del proyecto “Caracterización y tipificación de plantaciones tradicionales de *Theobroma cacao* L. como estrategia de diseño e implementación de arreglos agroforestales en el Bajo Caguán (Cartagena del Chaira) ejecutado por la Universidad de la Amazonía mediante contrato de especial de cooperación 590 de 2012 y mediante fondos de Formación Doctoral de la Universidad de la Amazonia por medio de la estampilla “Prodesarrollo de la Universidad de la Amazonia” Ley No 1301 del 2009.

2.8 Referencias bibliográficas

- Almeida, A.-A.F; Gomes, F.P; Araujo, R.P; Santos R.C; Valle, R.R. 2014. Leaf gas exchange in species of the *Theobroma* genus. *Photosynthetica* 52 (1): 16-21, 2014.
- Asase, A., Ofori-Frimpong, K., & Ekpe, P. K. 2010. Impact of cocoa farming on vegetation in an agricultural landscape in Ghana. *African Journal of Ecology*, 48(2), 338-346.
- Babin, R., Ten Hoopen, G. M., Cilas, C., Enjalric, F., Gendre, P., & Lumaret, J. P. 2010. Impact of shade on the spatial distribution of *Sahlbergella singularis* in traditional cocoa agroforests. *Agricultural and Forest Entomology* 12(1):69-79.
- Bisseleua, H.B., Fotio, D., Yede, Missoup, A.D., Vidal, S., 2013. Shade tree diversity, cocoa pest damage, yield compensating inputs and farmers' net returns in West Africa. *PLoS One* 8. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0056115>.
- Cerda R, Deheuvels O, Calvache D, Niehaus L, Saenz Y, Kent J, Vilchez S, Villota A, Martinez C, Somarriba E. 2014. Contribution of cocoa agroforestry systems to family income and domestic consumption: looking towards intensification. *Agrofor Syst* 1–25. doi:10.1007/s10457-014-9691-8
- Clark, P.J; Evans, F.C. 1954. Distance to nearest neighbor as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* 35:445-453.
- Colwell, R. K. 2013. EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 9 and earlier. User's Guide and application. Department of Ecology & Evolutionary Biology, University of Connecticut, Storrs, CT 06869-3043, USA
- Charbonnier, F., le Maire, G., Dreyer, E., Casanoves, F., Christina, M., Dauzat, J., Eitel, J.U.H., Vaast, P., Vierling, L.A., Roupsard, O., 2013. Competition for light in heterogeneous canopies: application of MAESTRA to a coffee (*Coffea arabica* L.) agroforestry system. *Agric. For. Meteorol.* 181, 152–169
- Davis, J.C. 1986. *Statistics and Data Analysis in Geology*. John Wiley & Sons.
- Deheuvels O., Avelino J., Somarriba E., Malézieux E. 2012. Vegetation structure and productivity in cocoa-based agroforestry systems in Talamanca, Costa Rica. *Agriculture, ecosystems and environment*, 149:181-188.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Dray, S., Dufour, A.B. 2007. The ade4 package: implementing the duality diagram for ecologists. *Journal of Statistical Software*. 22(4): 1-20.

- FEDECACAO, 2017. Federación Nacional de Cacaoteros. Departamento de estadística. Colombia. <http://www.fedecacao.com.co/portal/index.php/es/2015-02-12-17-20-59/nacionales>.
- Frazer, G.W., Canham, C.D., Lertzman, K.P. 1999. Gap Light Analyzer (GLA), Version 2.0: Imaging Software to Extract Canopy Structure and Gap Light Transmission Indices from True-Colour Fisheye Photographs, User's Manual and Program Documentation. The Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, NY.
- Gao, L., Xu, H., Bi, H., Xi, W., Bao, B., Wang, X., Bi, C., Chang, Y., 2013. Intercropping competition between apple trees and crops in agroforestry systems on the loess plateau of China. PLoS One 8, e70739, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0070739>.
- Gidoin, C., Avelino, J., Deheuvels, O., Cilas, C., & Bieng, M. A. N. 2014a. Shade tree spatial structure and pod production explain frosty pod rot intensity in cacao agroforests, Costa Rica. Phytopathology 104(3):275-281.
- Gidoin, C., Babin, R., Beilhe, L. B., Cilas, C., ten Hoopen, G. M., & Bieng, M. A. N. 2014b. Tree Spatial Structure, Host Composition and Resource Availability Influence Mirid Density or Black Pod Prevalence in Cacao Agroforests in Cameroon. PLoS one, 9(10), e109405.
- Hammer, Ø. 2009. New methods for the statistical analysis of point alignments. Computers & Geosciences 35:659-666.
- Harja, D; Vincént, G. 2008. Spatially Explicit Individual-based Forest Simulator - User Guide and Software. World Agroforestry Centre (ICRAF) and Institut de Recherche pour le Développement (IRD). 93 pp.
- ICCO (International Cocoa Organization). 2017. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XL, No. 1, Cocoa year 2015/16.
- Jezeer, R. E., Verweij, P. A., Santos, M. J., & Boot, R. G. 2017. Shaded Coffee and Cocoa—Double Dividend for Biodiversity and Small-scale Farmers. Ecological Economics, 140, 136-145.
- Johns ND. 1999. Conservation in Brazil's chocolate forest: the unlikely persistence of the traditional cocoa agroecosystem. Environmental Management 23:31-47.
- Kessler, M; Kebler, PJ; Gastein, RS; Bach, K; Schnull, M; Pitopang, R. 2005. Tree diversity in primary forest and different land use systems in Central Sulawesi, Indonesia. Biodiversity and Conservation 14: 547-560.
- Mariscal, M. J., Martens, S. N., Ustin, S. L., Chen, J., Weiss, S. B., Roberts, D. A. 2004. Light-transmission profiles in an old-growth forest canopy: simulations of photosynthetically active radiation by using spatially explicit radiative transfer models. Ecosystems, 7(5), 454-467.

- Mbolo, M. M. A., Zekeng, J. C., Mala, W. A., Fobane, J. L., Chimi, C. D., Ngavounsia, T., & Tamanjong, Y. V. 2016. The role of cocoa agroforestry systems in conserving forest tree diversity in the Central region of Cameroon. *Agroforestry Systems* 90(4), 577-590.
- Moguel R, Toledo VM. 1999. Biodiversity conservation in traditional coffee systems of Mexico. *Conservation Biology* 13:11-21.
- Ngo-Bieng, M. N., Gidoin, C., Avelino, J., Cilas, C., Deheuvels, O., & Wery, J. 2013. Diversity and spatial clustering of shade trees affect cacao yield and pathogen pressure in Costa Rican agroforests. *Basic and applied ecology* 14(4):329-336.
- Ngo-Bieng, M. N., Ginisty, C., Goreaud, F., Perot, T. 2006. Forst typology of oak and Scots pine mixed stands in Orleans Forest (France), based on the canopy spatial structure. *New Zealand Journal of Forestry Science* 36(2/3):325-346.
- Noiha Noumi, V., Zapfack, L., Awe Djongmo, V., Witanou, N., Nyeck, B., Ngossomo, J. D., ... & Tabue Mbobda, R. B. 2017. Floristic structure and sequestration potential of cashew agroecosystems in Africa: A case study from Cameroon. *Journal of Sustainable Forestry*, 36(3), 277-288.
- Oke DO, Odebiyi KA. 2007. Traditional cocoa-based agroforestry and forest species conservation in Ondo State, Nigeria. *Agric Ecosyst Environ* 122:305–311. doi:10.1016/j.agee.2007.01.022.
- Phillips-Mora, W.; Aime, M.C.; y Wilkinson, M.J. 2007. Biodiversity and biogeography of the cacao (*Theobroma cacao*) pathogen *Moniliophthora roreri* in tropical America. *Plant Pathol.* 56:911 - 922.
- Quesada, F., Somarriba, E., Malek, M. 2007. ShadeMotion 3.0: Software para calcular la cantidad de horas de sombra que proyectan un conjunto de árboles sobre un terreno. CATIE. 31 pp.
- R Development Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Rangel Ch, J. O., Avella, A. 2011. Oak forests of *Quercus humboldtii* in the Caribbean region and distribution patterns related with environmental factors in Colombia. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 145(sup1), 186-198.
- Rice R, Greenberg R. 2000. Cacao cultivation and the conservation of biological diversity. *Ambio* 29:167-173.
- Ripley, B.D. 1979. Tests of 'randomness' for spatial point patterns. *Journal of the Royal Statistical Society, ser. B* 41:368-374.
- Sambuichi, R. H., Vidal, D. B., Piasentin, F. B., Jardim, J. G., Viana, T. G., Menezes, A. A., & Baligar, V. C. 2012. Cabruca agroforests in southern Bahia, Brazil: tree component, management practices and tree species conservation. *Biodiversity and conservation*, 21(4), 1055-1077.

- Somarriba, E; Beer, J; Orihuela, JA; Andrade, H; Cerda, R; DeClerck, F; Detlefsen, G; Escalante, M; Giraldo, LA; Ibrahim, M; Krishnamurthy, L; Mena, VE; Mora-Delgado, J; Orozco, L; Scheelje, M; Campos, JJ. 2012. Mainstreaming agroforestry in Latin America. In: Nair PKR, Garrity DP (eds) Agroforestry: the way forward. Advances in agroforestry 9. Springer, New York, 429–453 pp.
- Somarriba, E; Lachenaud, P. 2013. Successional cocoa agroforests of the Amazon–Orinoco–Guiana shield, Forests, Trees and Livelihoods, 22:1, 51-59. doi.org/10.1080/14728028.2013.770316.
- Somarriba, E. 2005. ¿Cómo evaluar y mejorar el dosel de sombra en cacaotales? Agroforestería en las Américas 41-42: 122-130.
- Sonwa, D. J., Weise, S. F., Nkongmeneck, B. A., Tchatat, M., & Janssens, M. J. 2016. Structure and composition of cocoa agroforests in the humid forest zone of Southern Cameroon. Agroforestry Systems, 1-20.
- Steffan-Dewenter, I., Kessler, M., Barkmann, J., Bos, M. M., Buchori, D., Erasmi, S., & Guhardja, E. 2007. Tradeoffs between income, biodiversity, and ecosystem functioning during tropical rainforest conversion and agroforestry intensification. Proceedings of the National Academy of Sciences, 104(12), 4973-4978.
- Tadu, Z., Djiéto-Lordon, C., Youbi, E. M., Aléné, C. D., Fomena, A., & Babin, R. 2014. Ant mosaics in cocoa agroforestry systems of Southern Cameroon: influence of shade on the occurrence and spatial distribution of dominant ants. Agroforestry systems 88(6):1067-1079.
- Tomassone, R., Dervin, C., & Masson, J. P. 1993. Biométrie. Modélisation de phénomènes biologiques.
- Tondoh, J. E., Kouamé, F. N. G., Guéi, A. M., Sey, B., Koné, A. W., & Gnessougou, N. 2015. Ecological changes induced by full-sun cocoa farming in Côte d'Ivoire. Global Ecology and Conservation, 3, 575-595.
- Valdano, S. G., & Di Rienzo, J. 2007. Discovering meaningful groups in hierarchical cluster analysis. An extension to the multivariate case of a multiple comparison method based on cluster analysis. InterStat, 1-28.
- Xue, H., Han, Y., Li, Y., Wang, G., Feng, L., Fan, Z., ... & Mao, S. 2015. Spatial distribution of light interception by different plant population densities and its relationship with yield. Field Crops Research, 184, 17-27.
- Zhang, D., Zhang, L., Liu, J., Han, S., Wang, Q., Evers, J., Liu, J., van der Werf, W., Li, L. 2014. Plant density affects light interception and yield in cotton grown as companion crop in young jujube plantations. Field Crops Research, 169, 132-139.

Zuidema, P. A., Leffelaar, P. A., Gerritsma, W., Mommer, L., & Anten, N. P. 2005. A physiological production model for cocoa (*Theobroma cacao*): model presentation, validation and application. *Agricultural Systems*, 84(2), 195-225.

3. Capítulo 3. Non-destructive estimation of the leaf weight and leaf area in cacao (*Theobroma cacao* L.)

Scientia Horticulturae 229 (2018) 19–24



Contents lists available at ScienceDirect

Scientia Horticulturae

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scihorti



Non-destructive estimation of the leaf weight and leaf area in cacao (*Theobroma cacao* L.)



Juan Carlos Suárez Salazar^{a,b,*}, Luz Marina Melgarejo^b, Ervin Humprey Durán Bautista^a, Julio A. Di Rienzo^c, Fernando Casanoves^d

^a Universidad de la Amazonia, Facultad de Ingeniería, 180001 Florencia, Caquetá, Colombia

^b Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Bogotá D.E., Colombia

^c Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional de Córdoba, 5016, Córdoba, Argentina

^d Unidad de Biometría, Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE), 30501, Turrialba, Costa Rica

3.1 Abstract

Regression models to predict leaf area and leaf weight in cacao (*Theobroma cacao* L.) were fitted using leaves from cultivated plants under nursery conditions and from plants of commercial plantations, both located in the Amazon Investigations Center CIMAZ at Macagual, Caquetá, Colombia. A total of 2895 leaves were collected in such a way to cover a wide range of

leaf sizes. Width, length, weight, and leaf area were measured for each leaf. The total number of leaves was randomly divided into training and validation sets. The training set was used for model fitting and selection, the other for measuring model prediction ability. Leaf area and leaf weight were modeled using different linear regression models based on length and width of leaf. Polynomial regressions involving both length and width of leaves provided very good models to estimate the expected area ($R^2=0.98$) and weight ($R^2=0.91$) of leaves.

Keywords: Multiple regression analysis, leaf morphology, model validation

3.2 Introduction

Monitoring crop growth uses mathematical models to describe the relationship between the growth of a plant, the production of dry matter, and the expansion of total leaf area. The study of the time course of these variables can be followed either directly or through functions of them, such as Relative Growth Rate (RGR), Crop Growth Rate (CGR), Net Assimilation Rate (NAR), Leaf Area Duration (LAD), Leaf Area Relationship (LAR), and Leaf Area Index (LAI). The study thought time of these variables allows for the evaluation of the effects of different environmental conditions and management on crop growth.

Most studies that determine growth under controlled conditions require destructive samples, but this is impossible in experiments that aim to monitor the growth of the same leaf over time. By using regression models, leaf area and leaf weight can be predicted using variables that do not require destructive sampling techniques. Leaf area and leaf weight have been demonstrated to be good proxies of plant growth from which growth parameters can be estimated.

Different methods of measurement have been developed to calculate leaf area; however, these procedures require the extraction of leaves, preventing these from healing over time. Non-destructive sampling allows for the repeated measurement of leaves over time while avoiding the biological alteration characteristic of destructive methods (De Swart et al., 2004). Roupael et al. (2007) working on sunflowers and Tsialtas et al. (2008) working on the cabernet sauvignon grapevine, modeled leaf area and weight, applying linear regression models used as predictors of leaf length and/or leaf width. These methods are more economical, quick, and reliable, as well as non-destructive. Through leaf area and weight estimations, the agronomic and physiological behavior of plants with respect to the availability of radiation and water, as well as sowing schemes, can be explained (Blanco y Folegatti, 2005).

Regression models have been widely used to estimate the area and weight of leaves in a variety of crops such as pepper (Rojas-Lara et al., 2008), avocado (Calderón et al., 2009), coffee (Antunes et al., 2008), peach (Espinoza-Espinoza et al., 1998), maize (Birch et al., 1998), orange (Avanza et al., 2004; Hernández-López et al., 2004), papaya (Cardona et al., 2009), rose (Fascella et al., 2013), tobacco (Bozhinova, 2006), cassava (Burgos et al., 2010), and mango (Ghoreishi et al., 2012, Calderón et al., 2009). The aim of this study was to evaluate different models to provide precise estimates of leaf area and leaf weight in *Theobroma cacao* L. using non-destructive techniques.

3.3 Materials and methods

Information concerning the morphological variables of leaves was collected (January, 2015) from plants of the *Theobroma cacao* L. from a mixture of four clones (CCN51, EET8, IMC67 and TCH565), cultivated in nursery as well as in commercial plantations, both located at the *Centro de Investigación Amazónica* CIMAZ at Macagual (1° 37' N, 75° 36' W), Caquetá, Colombia. A total of 2890 leaves without apparent damage were collected from 440 plants randomly selected from the plantations (plants aging from 0.5 to 4 years old), and from 360 plants randomly selected at the nursery (plants aged six months old). We systematically chose two leaves per plant in nursery (bottom and top of the plant) and five leaves per plant in plantation covering five height strata of the plant.

The fresh weight of each leaf was taken using an Ohaus Scout electronic balance (100 ± 0.001 g). Each leaf was also scanned using the HP ScanJet Pro 2500 scanner. Program ImageJ was used to calculate morphometric measurements such as length, width, perimeter, and leaf area from its scanned image (Ferreira y Rasband, 2012). Summary statistics are provided for each of the morphometric variables evaluated. Pairwise Pearson's and Spearman's correlation coefficients were also calculated among the set of morphometric variables.

Exploratory data analysis showed that relationship among dependent (leaf weight and leaf area) and predictor (leaf length and leaf width) variables always described curvilinear trends. Therefore, multiple linear regression models, including second order polynomials on length, width or both variables, were used to estimate the expected value of the weight and area of leaves. The fitted models are listed below (Table 3-1). Variable Y represents leaf area or leaf weight whenever applicable. In all cases, the heteroscedastic version of the model performed better (lower AIC)

than the homoscedastic one. The heteroscedasticity was modeled with a power function of the predicted value (Di Rienzo et al., 2012). Models were fitted using function `gls` of library `nlme` (Pinheiro et al., 2016) of R language version 3.4.0 (R Core Team, 2017) using the interface of InfoStat (Di Rienzo et al., 2017).

Tabla 3-1 Fitted models to estimate expected values of weight and area of leaves of cacao (*Theobroma cacao* L.) as a function of the length and width of the leaves.

$$\begin{aligned}
 (\text{Model 1}) \quad Y_i &= \beta_0 + \beta_1 \text{length}_i + \beta_2 \text{width}_i + \beta_3 \text{length}_i^2 + \beta_4 \text{width}_i^2 + \beta_5 \text{length}_i \times \text{width}_i + e_i \\
 (\text{Model 2}) \quad Y_i &= \beta_0 + \beta_1 \text{length}_i + \beta_2 \text{width}_i + \beta_3 \text{length}_i^2 + \beta_4 \text{width}_i^2 + e_i \\
 (\text{Model 3}) \quad Y_i &= \beta_0 + \beta_1 \text{length}_i + \beta_2 \text{length}_i^2 + e_i \\
 (\text{Model 4}) \quad Y_i &= \beta_0 + \beta_1 \text{width}_i + \beta_2 \text{width}_i^2 + e_i \\
 (\text{Model 5}) \quad Y_i &= \beta_0 + \beta_1 \text{length}_i + \beta_2 \text{width}_i + \beta_3 \text{width}_i^2 + e_i \\
 (\text{Model 6}) \quad Y_i &= \beta_0 + \beta_1 \text{length}_i + \beta_2 \text{length}_i^2 + \beta_3 \text{width}_i + e_i \\
 e_i &\sim N\left(0, \sigma_i^2 = \left(\hat{Y}_i\right)^p\right); \quad \text{cor}(e_i, e_{i'}) = 0 \quad \forall (i \neq i')
 \end{aligned}$$

From the total of the 2890 leaves recorded, 1465 were randomly chosen to from the total of the 2890 leaves recorded, 1465 were randomly chosen to conform the training set used to estimate the models. The remaining 1425 leaves were used as a validation set to measure the predictive ability of a fitted model calculating, in this set, the R^2 and prediction mean square error (PMSE).

Prediction mean square error (PMSE) and R^2 are summary statistics that allow for the comparison of models and suggest how good the fitting is. However, they do not tell anything about trends in departure of observed to expected values, across the regions of prediction space. A simple and effective way to visualize any trouble regarding this issue is to draw a scatter plot of observed vs. expected values, and overlap a reference line ($y=x$) and the regression line of observed vs. expected values. A departure of the regression line of observed vs. expected from the reference line is evidence of bias. Sometimes, reference and regression lines are too close to visually recognize differences among a set of competing models. We calculated the area between those lines (ABL) in the range of observed dependent variables as a measurement of bias.

3.4 Results

Summary statistic are provided for each of the morphometric variables evaluated (Table 3-2). Pairwise Pearson's and Spearman's correlation coefficients were also calculated among the set of morphometric variables (Figure 3-1). Pearson's and Spearman's correlation coefficients were very similar (concordance between these correlations coefficients was 0.95).

Tabla 3-2 Summary statistics for morphometric variables of leaves of *Theobroma cacao* L. The sample was taken to cover a wide range of leave sizes.

Variable	Mean	Std. Dev.	Min	Max
Weight (g)	0.69	0.38	0.04	1.99
Area (cm ²)	60.34	30.47	3.59	165.47
Length (cm)	15.47	4.50	2.34	29.08
Width (cm)	5.59	1.49	1.11	10.47

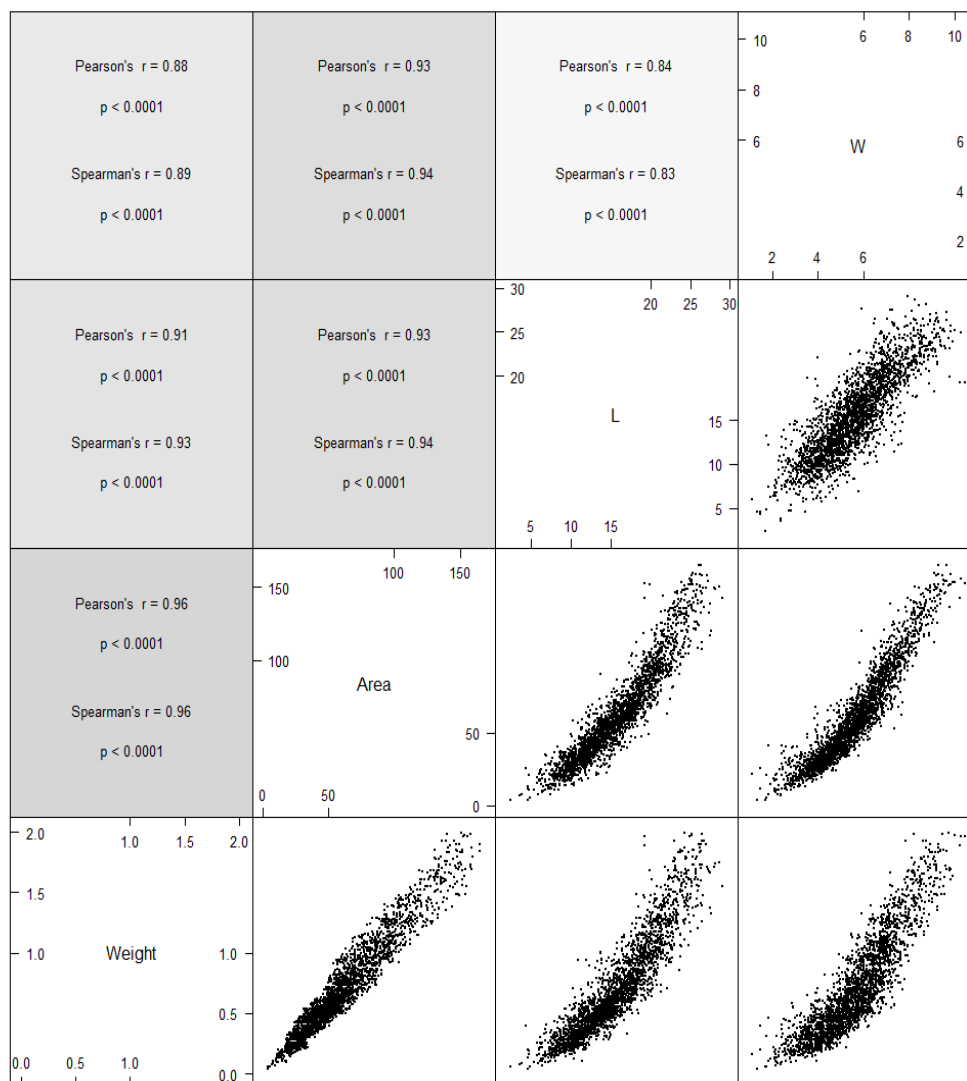


Figura 3-1 Scatter plots matrix between area, weight, length (L) and width (W) of the leaves of *Theobroma cacao* L.

Regression coefficients for the six models described above were estimated for both dependent variables – weight and leaf area (Table 3-3 and Table 3-4). In both cases, Model 2, which is a second order polynomial on leaf length and leaf width, without their cross product have a PMSE as low as for Model 1, but require one less parameter, not diminishing R^2 . Exclusion of leaf length or leaf width increased PMSE, and reduced R^2 .

Tabla 3-3 Summary of the six models evaluated to predict leaf weight. L, W, LL, WW, and LW are the regression coefficients corresponding to leaf length (L), leaf width (W), squared leaf length (LL), squared leaf width (WW), and the cross product of leaf length and leaf width (LW). Prediction mean square error (PMSE), and determination coefficient (R^2) are calculated on the validation data set.

Model	Intercept	L	W	LL	WW	LW	PMSE	R^2
1	0.1694	0.00168	-0.06672	0.00101	0.01233	0.00216	0.013	0.91
2	0.1648	0.00254	-0.06783	0.00137	0.01539		0.013	0.91
3	0.1088	-0.00470		0.00255			0.020	0.86
4	0.2347		-0.07552		0.02638		0.026	0.82
5	0.1150	0.04166	-0.15262		0.02362		0.013	0.91
6	0.0524	-0.03629	0.08881	0.00274			0.014	0.90

Tabla 3-4 Summary of the six models evaluated to predict leaf area. L, W, LL, WW, and LW are the regression coefficients corresponding to leaf length (L), leaf width (W), squared leaf length (LL), squared leaf width (WW), and the cross product of leaf length and leaf width (LW). Prediction mean square error (PMSE) and determination coefficient (R^2) are calculated on the validation data set.

Model	Intercept	L	W	LL	WW	LW	PMSE	R^2
1	10.165	0.1370	-3.3153	0.0714	0.9902	0.1624	19.45	0.98
2	9.634	0.2022	-3.3458	0.0985	1.2179		19.42	0.98
3	6.584	0.3709		0.1857			95.55	0.90
4	15.788		-4.2372		2.0377		88.73	0.90
5	2.275	3.3184	-9.1052		1.7237		21.35	0.98
6	-8.079	-2.7200	11.0818	0.1870			28.08	0.97

A departure of the regression line of observed vs. expected from the reference line is evidence of bias (Figure 3-2 and Figure 3-3 for weight and area respectively). In this case reference and regression line are too close to visually recognize differences among a set of competing models. When modeling weight, and considering the PMSE (smaller is better) and R^2 , three models (Model 1, Model 2 and Model 5) have similar performance. However, Model 5 has a smaller number of parameters and the regression line of observed vs. predicted is closer to the reference line (lesser ABL, Figure 3-2). Thus, we propose Model 5 as the best for weight estimation.

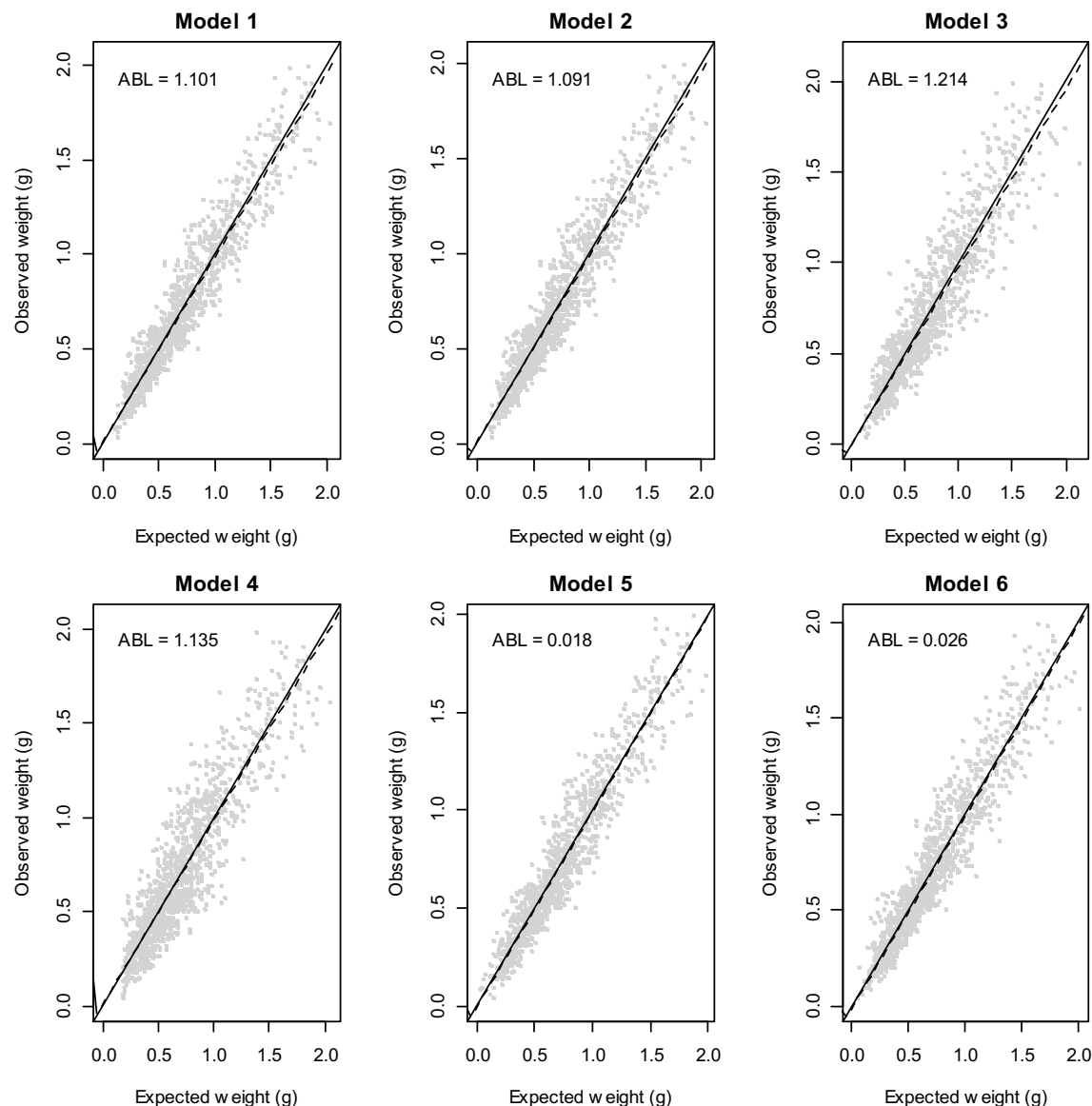


Figura 3-2 Relationship between the observed weight and the expected weight of the leaves of cacao plants (*Theobroma cacao* L.). Regression line of observed versus expected values: dotted line, reference line ($x=y$): solid.

When modeling area, and considering the PMSE (smaller is better) and R^2 , two models (Model 1, Model 2) have the lower PMSE and higher R^2 . However, Model 2 has a smaller number of parameters and the regression line of observed vs. predicted is closer to the reference line (lesser ABL, Figure 3-3). Thus, we propose Model 2 as the best for area estimation.

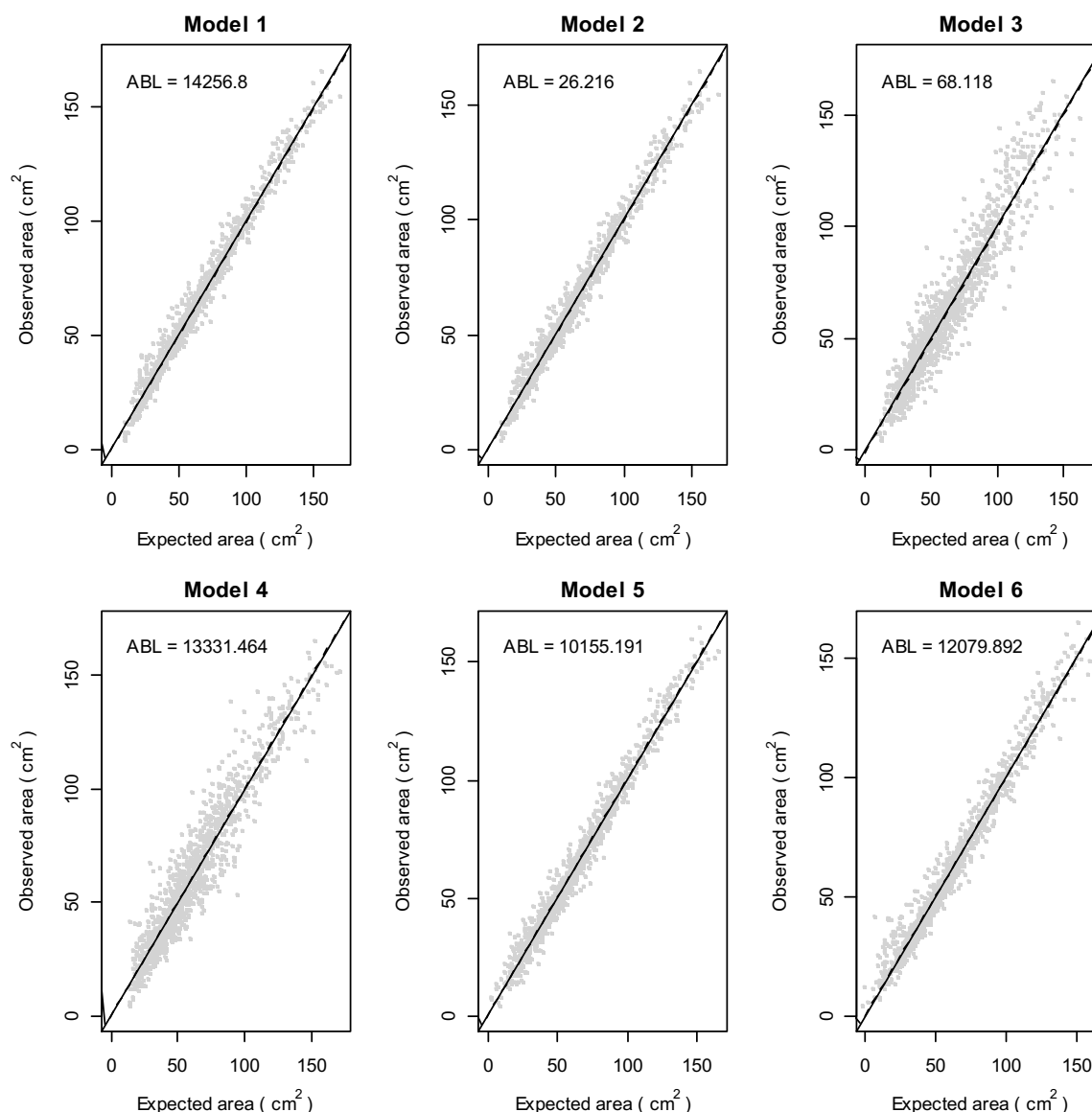


Figura 3-3 Relationship between observed leaf area and expected leaf area in leaves of cacao plants (*Theobroma cacao* L.). The dotted line represents the line $y=x$.

3.5 Discussion

Calculating leaf area and weight via regression methods is an inexpensive and useful tool for the investigation of the physiology and agronomic behavior of crops under different management conditions, including fertilization, water availability, and instances of contrasting conditions such as crop rehabilitation via agroforestry. For this reason, the morphological parameters of the leaf, such as length and width, have been frequently used when developing

regression estimators of leaf variables that are more difficult to measure (Keramatloua et al., 2015; Fascella et al., 2013; Gao et al., 2012; Pompelli et al., 2012; Roupael et al., 2010). We found a positive correlation between leaf area and length and between leaf area and width, with correlation coefficients over 0.93 (Pearson and Spearman). The correlation between weight and length was greater than the correlation between weight and width (Pearson 0.91 and 0.88, respectively) and the Spearman (0.93 and 0.89, respectively). Serdar and Demirsoy (2006) found a close relationship between leaf width, leaf length and leaf area of chestnut, with Pearson correlation values ranging from 0.95 to 0.98.

Leaf area and weight estimation for perennial forest and fruit species such as Nogal (*Juglans regia* L.) (Keramatloua et al., 2015) and Piñon (*Jatropha curcas* L.) (Pompelli et al., 2012) have been developed using the width and length of the leaf in polynomial regression models including the cross-product between them. In our work, whether the response variable was leaf weight or leaf area, there is no advantage of including cross-product of length and width in the multiple regression approach, but excluding leaf length or leaf width increased residual mean square and reduced R^2 .

Keramatloua et al. (2015) found that a model including only the cross-product of length and width was the best model to evaluate leaf area in *Juglans regia* L., and De Swart et al. (2004) found that a complete second order polynomial model in length and width (including the cross-product) was the best to evaluate leaf area in *Capsicum annuum* L; both authors made selections based on R^2 and PMSE. This is in agreement with previous studies (Cristofori et al., 2007; Mendoza-de Gyves et al., 2007; Roupael et al., 2007; Palmer, 1987) where the leaf area estimation models were developed using the multiplicative equation (length \times width).

The selection of the best model must be based not only on R^2 and PMSE, but using some measure of accuracy. Antunes et al. (2008) found that models for *Coffea arabica* and *Coffea canephora*, even when showing high R^2 and high precision, produce underestimations of leaf area. Gao et al. (2012) found that models to estimate leaf area in genotypes of roses (*Rosa hybrida* L.) were biased. They explained the bias as due to morphological differences between individuals and genotypes.

Several works used a validation set to perform a model validation mainly based on the R^2 and PMSE of the adjusted vs. reference line (Keramatloua et al., 2015; Fascella et al., 2013; Gao et al., 2012; Pompelli et al., 2012; Roupael et al., 2010; De Swart et al., 2004). In addition to R^2 and PMSE, we calculated the area between adjusted vs. predicted line and reference line (ABL) with a large validation set as a measure of bias (area close to zero means low bias). This is an extra criterion to choose among models considering bias. In our study, we found the best model

to estimate weight has a lesser agreement with the measured value than leaf area models. This result is according to the findings of Cho et al. (2007), who found the best accuracy estimating leaf area rather than leaf weight in cucumbers (*Cucumis sativus* L.).

A point to highlight in our approach to regression models is the introduction of heteroscedastic models. It is commonly observed that morphological variables of live organisms increase their variance as they grow. When heteroscedasticity is present, as in this work, the use of heteroscedastic models is recommended to get more precise estimators of regression coefficients. The results obtained in this study demonstrate that leaf area and weight of the cacao plant (*Theobroma cacao* L.) can be estimated using polynomial regression involving both the length and width of leaves. Based on ABL, R^2 and PMSE we recommend the model containing L, LL, W and WW (Model 2) for leaf area estimation and the model with L, W and WW (Model 5) for leaf weight estimation. These models were estimated and validated using data sets of thousands of leaves, covering a wide range of leaf sizes.

3.6 Acknowledgments

This project was carried out with the financial collaboration of COLCIENCIAS using BID funds under the framework “Characterization and classification of traditional *Theobroma cacao* plantations as a strategy for the design and implementation of agroforestry arrangements in the Bajo Caguán (Cartagena del Chaira)”, carried out by Amazonia University through a special contract of cooperation 590 from 2012, and through Amazonia University funds for Doctoral Training by via the seal “Pro-development of Amazonia University” Law No. 1301 of 2009.

3.7 References

- Antunes, W.C., Pompelli, M.F., Carretero, D.M., DaMatta, F.M., 2008. Allometric models for non-destructive leaf area estimation in coffee (*Coffea arabica* and *Coffea canephora*). Ann. Appl. Biol. 153(1), 33-40.
- Avanza, M. M., Giménez, L., Mazza, S. M., Rodríguez, V. A., 2004. Descripción del crecimiento de frutos de naranjo dulce mediante el uso de modelos no lineales. Comunicaciones Científicas y Tecnológicas. Universidad Nacional del Nordeste, Argentina, 4 pp.
- Birch, C.J., Hammer, G.L., Rickert, K.G., 1998. Improved methods for predicting individual leaf area and leaf senescence in maize (*Zea mays*). Aust. J. Agric. Res. 49(2), 249-262.

- Blanco, F.F., Folegatti, M.V., 2005. Estimation of leaf area for greenhouse cucumber by linear measurements under salinity and grafting. *Sci. Agr.* 62(4), 305-309.
- Bozhinova, R.P., 2006. Coefficients for determination of the leaf area in three Burley tobacco varieties. *JCEA*. 7(1), 7-12.
- Burgos, A.M., Avanza, M.M., Balbi, C.N., Prause, J., Argüello, J.A., 2010. Modelos para la estimación no destructiva del área foliar de dos cultivares de mandioca (*Manihot esculenta* Krantz) en la Argentina. *Agriscientia* 27(1), 55-61.
- Calderón, A., Soto, F., Calderón, M., Fundora, L.R., 2009. Estimación de área foliar en posturas de mango (*Mangifera indica* L.) y aguacatero (*Persea* spp.) en fase de vivero a partir de las medidas lineales de las hojas. *Cultivos Tropicales* 30(1), 43-48.
- Cardona, A.C., Araméndiz, H.T., Barrera, C.C., 2009. Estimación del área foliar de papaya (*Carica papaya* L.) basada en muestreo no destructivo. *Actualidad y Divulgación Científica* 12(1), 131-139.
- Cho, Y. Y., Oh, S., Oh, M. M., Son, J. E., 2007. Estimation of individual leaf area, fresh weight, and dry weight of hydroponically grown cucumbers (*Cucumis sativus* L.) using leaf length, width, and SPAD value. *Sci. Hortic.* 111(4), 330-334.
- Cristofori, V., Roupael, Y., Gyves, E.M.-d., Bignami, C., 2007. A simple model for estimating leaf area of hazelnut from linear measurements. *Sci. Hortic.* 113(2), 221-225.
- De Swart, E.A.M., Groenwold, R., Kanne, H.J., Stam, P., Marcelis, L.F.M., Voorrips, R.E., 2004. Non-destructive estimation of leaf area for different plant ages and accessions of *Capsicum annum* L. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 79, 764-770.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W., 2017. InfoStat versión 2017. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Espinoza–Espinoza, J. R.; Ortiz–Cereceres, J.; Mendoza–Castillo, Ma. Del C.; Villaseñor–Alva, J. A.; Villegas–Monter, A.; Peña–Valdivia, C.; Almaguer–Vargas, G., 1998. Modelos de regresión para la estimación del peso fresco y seco de ramas de duraznero (*Prunus persica*, L. Batsh.). *Revista Chapingo. Serie horticultura* 4(2), 125-131.
- Fascella, G; Darwich, S; Roupael, Y., 2013. Validation of a leaf area prediction model proposed for rose. *Chilean J. Agric. Res.* 73(1), 73-76.
- Ferreira, T; Rasband, WS., 2012. ImageJ User Guide - IJ 1.46, 114 p.
- Gao, M., Van der Heijden, G.W.A.M., Vos, J., Eveleens, B.A., Marcelis, L.F.M., 2012. Estimation of leaf area for large scale phenotyping and modeling of rose genotypes. *Sci. Hortic.* 138, 227-234.

- Ghoreishi, M., Hossini, Y., Maftoon, M., 2012. Simple models for predicting leaf area of mango (*Mangifera indica* L.). Journal of Biology and Earth Sciences 2(2), 845-853.
- Hernández-López, I., Flores-López C., Valencia-Manzo, S., Cornejo-Oviedo, E.H., 2004. Crecimiento de tres especies de pino en una plantación establecida en Santiago Comaltepec, Ixtlán, Oaxaca. In: Resultados de Proyectos de Investigación. UAAAN. Buenavista, Saltillo, Coahuila. 7 p.
- Keramatloua, I; Sharifanib, M; Sabouric, H; Alizadeha, M; Kamkard, B. 2015. A simple linear model for leaf area estimation in Persian walnut (*Juglans regia* L.) Sci. Horticult. 184, 36-39.
- Mendoza-de Gyves, E., Rouphael, Y., Cristofori, V., Mira, F.R., 2007. A non-destructive, simple and accurate model for estimating the individual leaf area of kiwi (*Actinidia deliciosa*). Fruits 62, 171-176.
- Palmer, J., 1987. Measurement of leaf area in apple trees. J. Hortic. Sci. 62, 5-10.
- Pinheiro, J., Bates, D., DebRoy, S., Sarkar, D., 2016. *_nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_*. R package version 3.1-128, <URL: <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- Pompelli, M.F., Antunes, W.C., Ferreira, D.T.R.G., Cavalcante, P.G.S., Wanderley-Filho, H.C.L., Endres, L., 2012. Allometric models for non-destructive leaf area estimation of *Jatropha curcas*. Biomass Bioenergy 36, 77-85.
- R Core Team, 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rojas-Lara, P.C., Pérez-Grajales, M., Colinas-León, M.T.B., Sahagún-Castellanos, J., Avitia-García, E., 2008. Modelos matemáticos para estimar el crecimiento del fruto de chile manzano (*Capsicum pubescens*). Revista Chapingo. Serie horticultura 14(3), 27-34.
- Rouphael, Y., Mouneimne, A.H., Ismail, A., Mendoza-de Gyves, E., Rivera, C.M., Colla, G., 2010. Modeling individual leaf area of rose (*Rosa hybrida* L.) based on leaf length and width measurement. Photosynthetica 48, 9-15.
- Rouphael, Y., Colla, G., Fanasca, S., Karam, F., 2007. Leaf area estimation of sunflower leaves from simple linear measurements. Photosynthetica 45, 306-308.
- Serdar, Ü; Demirsoy, H. 2006. Non-destructive leaf area estimation in chestnut. Sci. Horticult. 108(2), 227-230.
- Tsialtas, J.T., Koundouras, S., Zioziou, E., 2008. Leaf area estimation by simple measurements and evaluation of leaf area prediction models in cabernet-Sauvignon grapevine leaves. Photosynthetica 46, 452-456.

4. Capitulo 4. Modelos de predicción de flujo de savia en árboles de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en el occidente de la Amazonía colombiana

4.1 Resumen

El cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) es una de las actividades agrícolas importantes en el mundo con una producción de 5 millones de toneladas de grano al año. Se cultiva bajo diferentes arreglos agroforestales que, al generar distintos niveles de sombra y modificar las características ambientales, repercuten sobre el flujo de savia y en consecuencia sobre la producción. Para valorar la influencia de distintas variables ambientales sobre el flujo de savia (V_s) se ajustó un modelo de predicción para el V_s en árboles de cacao bajo tres arreglos agroforestales. Estos arreglos diferían en el nivel de radiación transmitida de acuerdo con la composición (árboles acompañantes) y estructura del cultivo. Se analizó la respuesta del V_s frente a las principales variables ambientales para cada arreglo y se comparó el desempeño del modelo (observado vs modelado) para estimar el V_s en función de las variables ambientales. Para ello, se monitoreó durante dos semanas, en época seca, la humedad relativa del aire (RH_a), la temperatura del aire (T_a), la radiación fotosintéticamente activa (PAR), el déficit de presión de vapor (VPD) y el V_s . El modelo ajustado predice bien ($r^2 > 0.90$) el V_s en relación con las variables ambientales bajo cada arreglo agroforestal. Los resultados muestran una asociación positiva

entre V_s y PAR , VPD , T_a y negativa con RH_a . En el arreglo bajo sombra temporal transmitida y generada por la asociación cacao-plátano (CP) hubo una mayor V_s diaria y nocturna. Además, bajo los arreglos agroforestales SMD y SAA se presentaron reversos nocturnos de flujo de savia, lo cual es indicativo de redistribución hidráulica. Este estudio presenta el comportamiento del V_s en el cultivo del cacao influenciada por la estructura agroforestal bajo las condiciones de la Amazonia. Desde el punto de vista agronómico, los resultados sugieren que los cacaotales en la Amazonía deben ser manejados con sombra temporal transmitida, ya que bajo estas condiciones se maximiza el V_s diurno y nocturno.

Palabras clave: Agroforestería, Redistribución hidráulica, *Theobroma cacao*

4.2 Abstract

The cultivation of cocoa (*Theobroma cacao* L.) is one of the important agricultural activities in the world with a production of 5 million tons of grain per year. It is cultivated under different agroforestry arrangements that, by generating different levels of shade and modifying environmental characteristics, have an impact on the flow of sap and consequently on production. To assess the influence of different environmental variables on the sap flow (V_s), a prediction model for V_s was adjusted in cocoa trees under three agroforestry arrangements. These arrangements differed in the level of radiation transmitted according to the composition (companion trees) and structure of the crop. The V_s response was analyzed against the main environmental variables for each arrangement and the performance of the model (observed vs. modeling) was compared to estimate the V_s according to the environmental variables. To this end, the relative humidity of the air (RH_a), the air temperature (T_a), the photosynthetically active radiation (PAR), the vapor pressure deficit (VPD) and the V_s were monitored for two weeks in the dry season. The adjusted model predicts well ($r^2 > 0.90$) the V_s in relation to the environmental variables under each agroforestry arrangement. The results show a positive association between V_s and PAR , VPD , T_a and negative with RH_a . In the arrangement under temporary shade transmitted and generated by the cocoa-banana association (CP) there was a higher daily and night V_s . In addition, under the SMD and SAA agroforestry arrangements there were nocturnal sap flow reversals, which is indicative of hydraulic redistribution. This study presents the behavior of the V_s in the cultivation of cocoa influenced by the agroforestry structure under the conditions

of the Amazon. From the agronomic point of view, the results suggest that the cacao plantations in the Amazon should be managed with transmitted temporal shade, since under these conditions the diurnal and nocturnal V_s are maximized.

Keywords: Agroforestry, Hydraulic Redistribution, *Theobroma cacao*

4.3 Introducción

El cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) es una de las principales actividades agrícolas a nivel mundial con una producción de 5 millones de toneladas de grano en el año 2012 y un área de producción de 9.9 millones de hectáreas (FOASTAT, 2016; ICCO, 2016), de las que el 70% corresponde al cultivo asociado a árboles de sombra o con cultivos anuales y perennes (Somarriba et al. 2012). Para el 2012, se reportó que en América Latina el 70% de las 1.5 millones de hectáreas de cultivo de cacao están cultivadas bajo sombra (Somarriba et al. 2012) como uno de los principales manejos que aun hoy día se mantiene. El cultivo del cacao en Colombia es una actividad económica que cubre 143 645 ha, es desarrollada por alrededor de 40000 familias productoras y genera 82000 empleos con una producción de 42000 toneladas de grano anual (MADR, 2011). Por tanto, es importante el conocimiento del impacto que tienen las estructuras agroforestales que proveen sombra al cacao en parámetros como el flujo de savia en la planta y su relación con las variables ambientales generadas por las diferentes tipologías forestales.

El flujo de savia (V_s) ha sido monitoreado en diferentes tipos de cultivos y especies forestales (Yin et al. 2014; Aranda et al. 2012) para el cálculo del balance hídrico de dichos cultivos (Ghimire et al. 2014; Muñoz-Villers et al. 2012), la productividad (Madurapperuma et al. 2009) y su adaptación al cambio climático (Ahrends et al. 2010). Así, en cacao se ha reportado un mayor uso del agua en los árboles cultivados bajo sombra (Köhler et al. 2014) presentando mayor absorción en plantas bajo policultivos comparado con monocultivos (independientemente del desarrollo de la planta Köhler et al. 2009). Las condiciones ambientales en el cultivo tienen un importante efecto en los niveles de V_s (Köhler et al. 2014; Pimentel et al. 2010) y, por tanto, en el balance hídrico que está moldeado por la evaporación del agua en el suelo y la transpiración del cultivo (Siriri et al. 2013; Lin, 2010). Además, las condiciones microclimáticas (Hernández-Santana et al. 2016; Rousseaux et al. 2009) inciden en el incremento o variabilidad del flujo de savia; por ejemplo, se ha reportado que variables como la hora del día, el déficit de presión de vapor (Ford et al. 2004) y el nivel de radiación afectan al flujo de savia de los cultivos arbóreos (Fiora y Cescatti, 2006). Los distintos arreglos agroforestales al modificar el nivel de sombrero

cambian las condiciones microclimáticas (Siriri et al. 2013; Dierick et al. 2010; Köhler et al. 2010) incidiendo sobre el balance hídrico del cultivo y afectando de forma determinante el V_s . Al diseñar arreglos agroforestales, además de considerar el balance hídrico en el cultivo del cacao, se debe considerar la reducción de la competencia por agua entre la especie de cultivo y los árboles del dosel superior (Lin, 2010).

El objetivo de este trabajo fue cuantificar y comparar el flujo de savia en plantas de cacao creciendo bajo diferentes arreglos agroforestales en la Amazonía colombiana y su relación con las características microclimáticas generadas por estos. Adicionalmente, se modeló la variación de V_s en las plantas de cacao en función de las principales variables ambientales registradas en cada arreglo agroforestal, durante época seca y considerando los días como repeticiones durante el periodo de monitoreo: radiación, humedad, temperatura y déficit de presión de vapor (Niu et al. 2014; Horna et al. 2011; Zeppel et al. 2008 Chuang et al. 2006).

4.4 Materiales y métodos

4.4.1 Sitio de estudio y arreglos agroforestales

Las mediciones se realizaron en plantas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en el Centro de Investigaciones Macagual - Universidad de la Amazonia-Colombia (1°37' N y 75°36' W). El clima es bosque húmedo tropical con una precipitación anual promedio de 3800 mm, un brillo solar de 1700 horas año⁻¹, una temperatura promedio de 25.5°C y humedad relativa del aire del 84%. Las plantas de cacao fueron plantadas en octubre del 2012, con una distancia de siembra 3x3 m, en tres parcelas de 25x50 m. Dos de ellas tenían especies maderables (*Cariniana pyriformis*, *Calycophyllum spruceanum*) y la tercera incluía sombrío con musáceas. Para caracterizar cada dosel, se midió la cantidad de fotones ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) que se transmiten por el dosel de los árboles superiores y la densidad y tipo de especies de arbóreas asociadas al dosel de sombra. Los tres arreglos comparados fueron: i. *Alta densidad de musáceas* (CP) con sombra temporal transmitida y generada por la asociación cacao-plátano (*Musa paradisiaca*, Musa AAB), estas últimas plantadas a una densidad de 127 plantas ha⁻¹, y radiación transmitida de 95%; ii. *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA) con sombra media transmitida y generada por el agrupamiento de árboles de copa poco densa (*Cariniana pyriformis*, *Calycophyllum spruceanum*), radiación transmitida promedio de 61% a una densidad de 35 árboles ha⁻¹; iii. *Multiestrato diversificado* (SMD) con sombra intensa y radiación transmitida del 28% con una densidad de 55

árboles por ha⁻¹. Los factores macro-ambientales (clima y suelo) fueron iguales para todas las parcelas. Por restricciones experimentales los arreglos agroforestales se realizaron en grandes parcelas y no fueron repetidos. El registro de V_s se realizó sobre cuatro plantas de cacao escogidas aleatoriamente en cada arreglo, considerando los días (15) como repeticiones durante el periodo de monitoreo, época seca, asegurando plena época seca, sin presencia de lluvias. Por la naturaleza clonal y coetánea de las plantas de cacao utilizadas se asume que las diferencias encontradas en el flujo de savia entre arreglos se deben al efecto de los arreglos sobre las variables ambientales y del efecto de estas últimas sobre el comportamiento fisiológico del cacao, no estando confundidos con otros factores.

4.4.2 Monitoreo de variables ambientales y flujo de savia

El monitoreo de las variables se realizó en plena época seca, en el periodo comprendido entre el 13 y el 27 del mes de enero del año del 2015, ya que sólo en esta época se presentan periodos de déficit hídrico para el cultivo, periodo en el cual se puede ver claramente la incidencia de cada arreglo agroforestal sobre las condiciones microclimáticas en el cultivo de cacao. Bajo el dosel de cada arreglo agroforestal se ubicó una estación meteorológica marca WatchDog 2900ET (Spectrum Technologies, Inc., USA) con la que se monitoreó con una frecuencia de minuto, la humedad relativa del aire (RH_a %), la temperatura del aire (T_a , °C), y la radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Se calculó el déficit presión de vapor (VPD , kPa) a partir de la temperatura del aire y de la humedad relativa registrada minuto a minuto siguiendo la metodología propuesta por Allen et al. (2006).

El flujo de savia se cuantificó en cuatro plantas de cacao bajo cada arreglo agroforestal con sensores tipo SFM1 (ICT International, Armidale, Australia) instalados en el tronco principal y a una altura de 20 cm del suelo. Estos sensores se basan en el método de relación de calor (Heat Ratio Method, HRM). El HRM fue desarrollado y presentado teóricamente por Burgess et al. (2001) y validado por Bleby et al. (2004). Estos sensores han sido ampliamente utilizados como herramienta para medir el uso del agua por los árboles (Fernández et al. 2016; Looker et al. 2016), permitiendo cuantificar la velocidad del flujo de savia con base en curvas de temperatura a partir de un impulso de calor (densidad y difusión térmica).

Además de las características propias de cada especie, las condiciones microclimáticas (Hernández-Santana et al. 2016; Rousseaux et al. 2009; Lin, 2007) inciden en el incremento o variabilidad del flujo de savia; por ejemplo, se ha reportado que variables como la hora del día, el déficit de presión de vapor (Ford et al. 2004) y el nivel de radiación (Fiora y Cescatti, 2006) pueden afectar al flujo de savia de los cultivos arbóreos. Los sensores SMF1 se asociaron a un sistema

de recolección de datos (CR10X datalogger + multiplexor AM416, Campbell Scientific, Logan, UT, USA) que almacenó una medida cada 10 minutos. Cada sensor SFM1 está compuesto por dos agujas y una sonda de calor integrada a un microprocesador para determinar el V_s . Cada aguja está compuesta por dos termocuplas las cuales reciben el pulso de calor que incrementa la temperatura en el xilema conductor y que es proporcional a la velocidad del pulso de calor (V_s , cm h^{-1}) (Burgess et al. 2001, 1998).

La V_s se calculó según la siguiente expresión:

$$V_s = \frac{k}{x} \ln(V_1 / V_2) * 3600$$

donde: k es la difusividad térmica en el área del xilema conductor (se asumió un valor por defecto de $0.0025 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), x es la distancia entre la sonda de calor y cada una de las agujas (cm), V es el aumento de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) inicial con respecto a la aguja ubicada en la parte inferior (V_1) y superior (V_2).

4.4.3 Análisis estadístico

Para cada variable ambiental se realizó un análisis de varianza para comparar los resultados entre diferentes arreglos agroforestales, usando los datos del periodo de monitoreo a distintas horas del día (horas oficiales UTC/GMT -5:00) y considerando los días como repeticiones durante el periodo de monitoreo. Las comparaciones de medias se realizaron usando la prueba de LSD Fisher ($\alpha=0.01$). Para predecir el V_s (variable dependiente) en función del arreglo agroforestal, la humedad relativa del aire (RH_a %), la temperatura del aire (T_a , $^{\circ}\text{C}$), y la radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) se ajustó un modelo lineal mixto en el que los arreglos agroforestales fueron incluidos como un factor de clasificación y las variables RH_a , T_a , PAR y VPD como covariables. El día, hora y planta se incluyeron como factores aleatorios. Los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza fueron evaluados mediante análisis exploratorio de residuos. Se ajustaron modelos de flujo de savia utilizando la totalidad de datos dentro del periodo de monitoreo ($n=3816$). Para la selección de modelos se utilizaron los criterios de información bayesiano (BIC) y akaike (AIC). Se estudiaron los residuos parciales para verificar la forma de inclusión de cada variable predictora en los modelos (i.e lineal o cuadrática). Se realizó un análisis de regresión lineal simple entre los valores predichos, generados a partir de los mejores modelos (por AIC / BIC) para el flujo de savia, y un conjunto de datos de validación

($n=1740$), considerando el valor de R^2 como una medida del valor predictivo del modelo. Se realizaron gráficos de dispersión mostrando la recta ajustada y la recta de ajuste ideal, i.e. $y=x$. Los ajustes se llevaron a cabo usando la función `lme` del paquete `nlme` (Pinheiro et al. 2015) del lenguaje R versión 3.4.0 (R Development Core Team, 2017), utilizando la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo et al., 2017).

4.5 Resultados

4.5.1 Variación de condiciones ambientales bajo los distintos arreglos agroforestales

La humedad relativa del aire fue en promedio de 90% con un rango de variación entre 49 y 100% (Tabla 4-1). La temperatura media del aire en la noche fue 22.4°C, mientras que en el día fue de 28.1 °C. La *PAR* promedio fue durante el día de 708.9 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ con valores máximos de 2310 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. El *VPD* promedio fue 0.28 kPa con valores máximos de 1.86 kPa. Las mayores diferencias entre arreglos se dieron a las 13:00 horas para todas las variables ambientales (Tabla 4-1, Figura 4-1) y fueron significativas en todos los casos ($p<0.0001$); también a las 10:00 y 16:00 horas, se encontraron diferencias entre los arreglos para todas las variables ambientales ($p<0.0001$ y $p<0.0002$, respectivamente). En el caso del arreglo SMD la temperatura media a las 13:00 horas fue de 26.4°C, la más baja entre los tres arreglos; siendo 1.79° C y 3.12° C más altos en promedio en SAA y CP, respectivamente (Tabla 4-1). Los patrones de diferencias entre arreglos agroforestales fueron similares para el resto de las variables. En SMD, donde hay un dosel arbóreo más denso, se obtuvieron los valores más bajos de *PAR* transmitida y *VPD*, mientras que en CP se obtuvieron los valores más altos y en SAA se obtuvieron valores intermedios. La humedad relativa siguió el patrón contrario (máximo en SMD, mínimo en CP). Destaca los valores de *PAR* a las 13:00 horas en el arreglo CP (2279 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), promedio que cuadruplicó los valores obtenidos en los otros dos arreglos (Tabla 4-1, Figura 4-1).

Tabla 4-1. Valores medios \pm E.E. de las variables ambientales durante el periodo de monitoreo bajo diferentes arreglos agroforestales y a distintas horas del día (horas oficiales UTC/GMT - 5:00,): humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a , °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa). Los arreglos forestales son: *Multiestrato diversificado complejo* (SMD), *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA), *Alta densidad de musáceas* (CP). Valores en una columna con letras distintas dentro de la misma franja horaria indican diferencias significativas entre arreglos forestales (post-hoc LSD Fisher tests, $p < 0.05$).

Hora	Arreglo	RH_a		T_a		PAR		VPD	
		Media	E.E	Media	E.E	Media	E.E	Media	E.E
10:00	SMD	88.32 \pm 1.91	A	23.98 \pm 0.43	c	354.51 \pm 38.66	b	0.30 \pm 0.05	b
	SAA	81.69 \pm 2.66	B	25.88 \pm 0.49	b	446.25 \pm 51.58	b	0.53 \pm 0.08	a
	CP	80.26 \pm 3.18	B	26.87 \pm 0.67	a	1426.98 \pm 216.07	a	0.56 \pm 0.10	a
13:00	SMD	76.56 \pm 2.69	A	26.63 \pm 0.64	c	467.67 \pm 45.80	b	0.69 \pm 0.09	c
	SAA	69.16 \pm 3.10	B	28.44 \pm 0.67	b	559.43 \pm 51.88	b	1.00 \pm 0.12	b
	CP	67.94 \pm 3.45	B	29.75 \pm 0.80	a	2278.98 \pm 275.40	a	1.12 \pm 0.15	a
16:00	SMD	80.11 \pm 3.49	A	26.25 \pm 0.86	c	216.88 \pm 37.74	b	0.61 \pm 0.13	b
	SAA	76.51 \pm 4.02	C	27.03 \pm 0.81	b	238.44 \pm 38.69	b	0.75 \pm 0.15	a
	CP	78.24 \pm 3.93	B	27.47 \pm 0.89	a	778.36 \pm 148.99	a	0.71 \pm 0.14	a

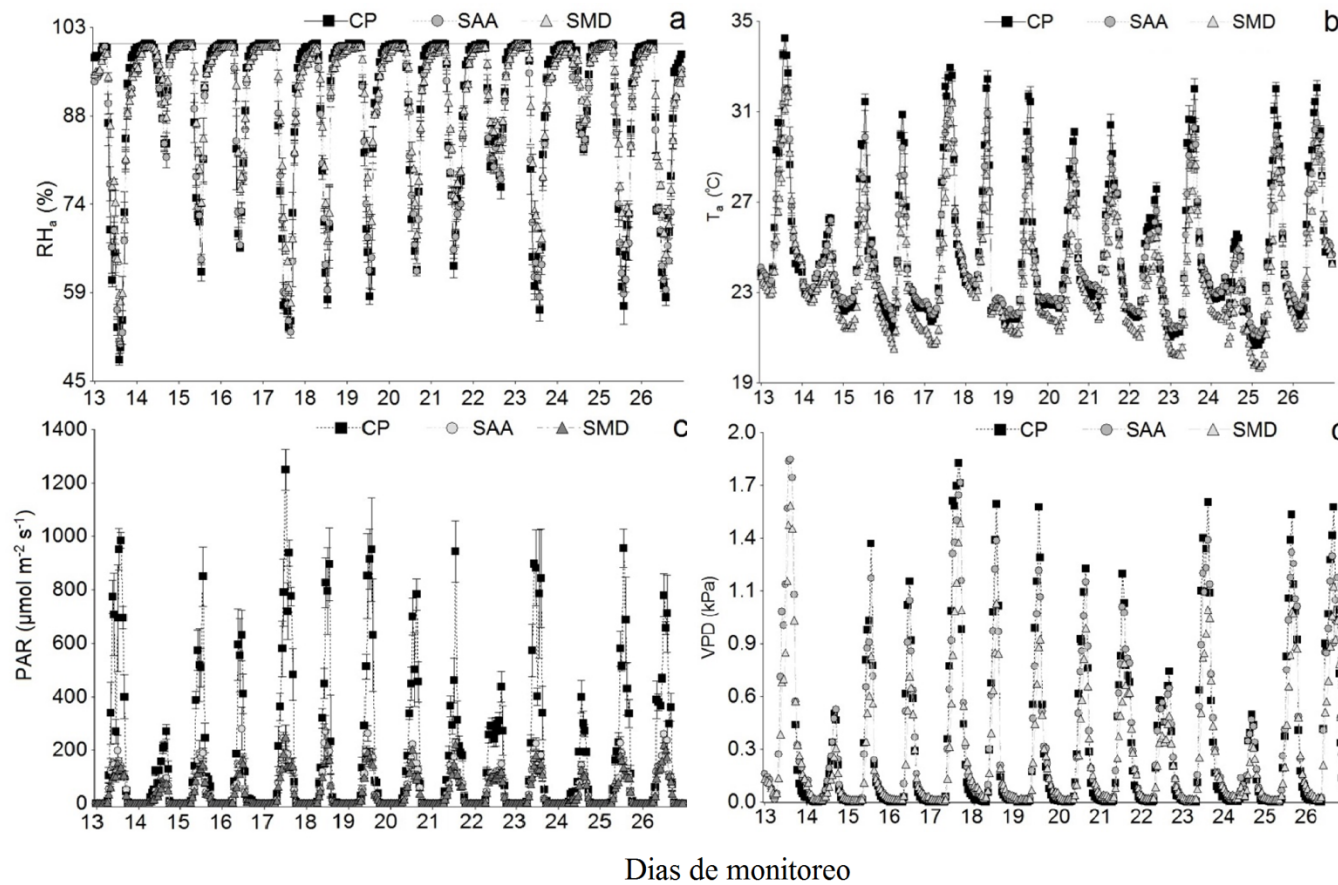


Figura 4-1. Comportamiento de variables microclimáticas (a. humedad relativa del aire RH_a %, b. la temperatura del aire T_a , °C, c. radiación fotosintéticamente activa PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, d. déficit de presión de vapor VPD , kPa), en época seca (Enero, 2015), bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao: Alta densidad de musáceas (CP). Baja diversidad de árboles agregados (SAA) y Multiestrato diversificado complejo (SMD). Los símbolos y barras de error son el valor medio (\pm E.E) entre días de esa variable a la hora indicada. El monitoreo de época seca corresponde a los días 13 a 27 de enero (año del 2015), debido a que en esta época se presentan períodos de déficit hídrico para el cultivo de cacao.

4.5.2 Respuesta del V_s y su relación con las condiciones ambientales en los arreglos agroforestales

Los valores máximos de flujo de savia en cacao se encontraron entre las 12 a 13 horas en todos los arreglos agroforestales (Figura 4-2). En CP, el cacao presentó durante todo el periodo de monitoreo siempre flujos de savia ascendentes, incluso en las noches ($0.03 \pm 0.0023 \text{ L hr}^{-1}$). En cambio, en los arreglos SAA y SMD se presentaron flujos negativos de savia en las noches, i.e., flujos reversos indicadores de redistribución hidráulica, con unos valores promedio de $-0.0047 \pm 0.0085 \text{ L hr}^{-1}$ y $-0.0314 \pm 0.004 \text{ L hr}^{-1}$, respectivamente. En SAA y SMD, los promedios nocturnos fueron significativamente distintos de cero (t-test; $p < 0.0001$), lo que indica una redistribución hidráulica nocturna diferencial entre estos arreglos agroforestales. Al relacionar el V_s con las variables ambientales en los distintos arreglos agroforestales, se observó una correlación negativa del V_s con la RH_a y positivas con el PAR , la T_a y el VPD (todos ellos con coeficientes de correlación superiores a 0.73 en términos generales, y mayores a 0.78 dentro de cada arreglo agroforestal y con un ranking de $r(V_s, PAR) > r(V_s, VPD) > r(V_s, T_a)$; Tabla 4-2).

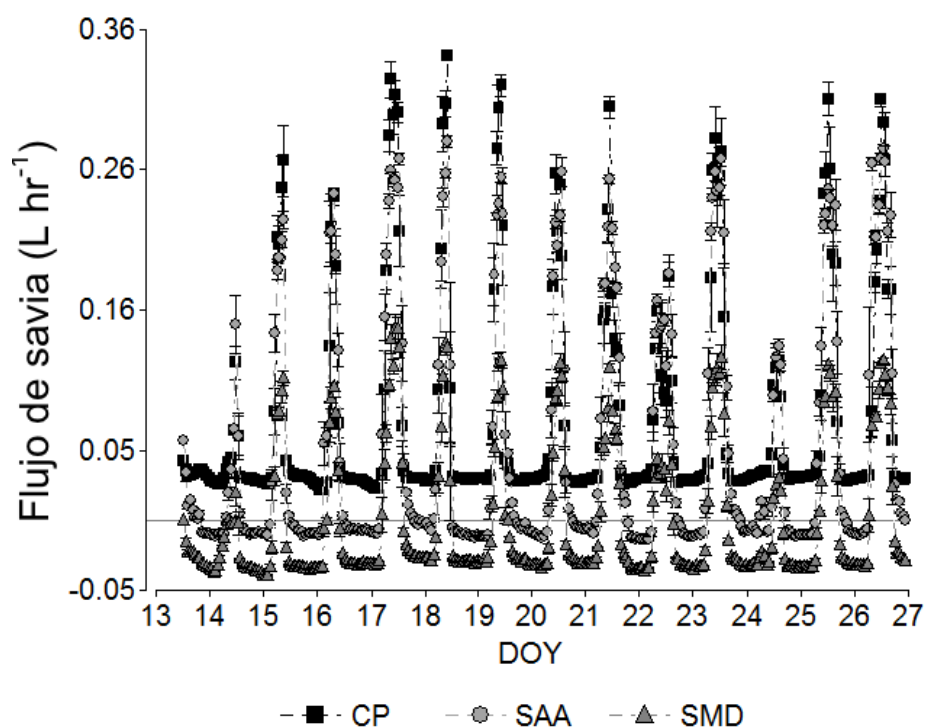


Figura 4-2 Comportamiento diario y en el periodo de monitoreo (época seca) del flujo de savia (V_s) en plantas de cacao ($n=4$) bajo diferentes arreglos agroforestales: *Alta densidad de musáceas* (CP). *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA). *Multiestrato*

diversificado complejo (SMD). Los símbolos y barras de error son el valor medio (\pm SE) para las 4 plantas y entre días de V_s .

Tabla 4-2 Coeficientes de correlación entre V_s en plantas de cacao y las variables ambientales durante el periodo de monitoreo (época seca) bajo diferentes arreglos agroforestales: *Multiestrato diversificado complejo* (SMD), *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA), *Alta densidad de musáceas* (CP). Las variables ambientales son: humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a , °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa). Todos los coeficientes de correlación fueron altamente significativos ($P < 0.0001$).

Factor	RH_a	T_a	PAR	VPD
General	-0.78	0.73	0.75	0.77
SMD	-0.87	0.78	0.91	0.84
SAA	-0.93	0.90	0.90	0.92
CP	-0.92	0.88	0.93	0.92

4.5.3 Modelación del V_s

El modelo simultáneo con las regresoras ambientales ha predicho bien el V_s ($R^2=0.98$) y muestra diferencias significativas entre arreglos agroforestales (Tabla 4-3 y Tabla 4-4). Se encontraron diferencias significativas entre las pendientes en todos los arreglos agroforestales para las distintas variables ambientales (RH_a , T_a , PAR , VPD y VPD^2), con valores de $p < 0.0001$ excepto para T_a ($p < 0.0105$). También se observaron diferencias en las ordenadas al origen según el arreglo agroforestal ($p < 0.0001$), en este sentido, desde el punto de vista fisiológico este modelo predice el flujo de savia a partir de las variables ambientales, estas últimas, producto de la modificación de la estructura agroforestal.

Tabla 4-3 Modelo obtenido de una serie de regresiones analizadas a partir de variables ambientales bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao en la Amazonía Colombiana. *Multiestrato diversificado complejo* (SMD), *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA), *Alta densidad de musáceas* (CP). Las variables ambientales son: humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a , °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa).

Parámetros	Value	E.E.	t-value	p-value
CP	0.143048 ± 0.023504		6.086086	<0.0001
SAA	0.1415 ± 0.031127		4.545832	<0.0001
SMD	-0.07501 ± 0.021173		-3.542673	0.0004
SAA vs SMD	0.21651 ± 0.025546		71.828041	<0.0001
HR_a	-0.000916 ± 0.000194		-4.715184	<0.0001
RH _a -SAA	-0.001641 ± 0.000302		-5.430774	<0.0001
RH _a -SMD	0.00005 ± 0.000203		0.246846	0.805
SAA vs SMD	-0.001691 ± 0.000248		46.516283	<0.0001
T_a	-0.000963 ± 0.000377		-2.558879	0.0105
T _a -SAA	-0.001074 ± 0.000273		-3.932545	0.0001
T _a -SMD	0.000237 ± 0.000207		1.144479	0.2525
SAA vs SMD	-0.001311 ± 0.000236		30.988786	<0.0001
PAR	0.000079 ± 0.000007		11.199369	<0.0001
PAR-SAA	0.000982 ± 0.000019		52.322038	<0.0001
PAR-SMD	0.000284 ± 0.000011		26.436293	<0.0001
SAA vs SMD	0.000697 ± 0.000018		1524.18835	<0.0001
PAR²	9.05E-09 ± 8.25E-09		1.097076	0.2727
PAR ² -SAA	-0.000002 ± 6.85E-08		-25.440021	<0.0001
PAR ² -SMD	-0.000001 ± 4.24E-08		-18.737173	<0.0001
SAA vs SMD	-0.000001 ± 7.19E-08		173.915314	<0.0001
DVP	0.038748 ± 0.009072		4.271091	<0.0001
DVP-SAA	0.039735 ± 0.013206		3.008962	0.0026
DVP-SMD	0.011093 ± 0.008686		1.277044	0.2017
SAA vs SMD	0.028642 ± 0.01102		6.75515	0.0094
DVP²	0.047163 ± 0.004914		9.598606	<0.0001
DVP ² -SAA	-0.049444 ± 0.005663		-8.731818	<0.0001
DVP ² -SMD	-0.040041 ± 0.003882		-10.315181	<0.0001
SAA vs SMD	-0.009404 ± 0.004683		4.031409	0.0447

Tabla 4-4 Coeficientes de modelo para la determinación del V_s usando las variables ambientales bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao en la Amazonia Colombiana como predictores. *Multiestrato diversificado complejo* (SMD), *baja diversidad de árboles agregados* (SAA), *Alta densidad de musáceas* (CP), humedad relativa del aire (RH_a %), temperatura del aire (T_a , °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa).

Coeficientes	CP	SAA	SMD
β_0	0.143048	0.141500	-0.07501
HR	-0.000916	-0.002557	-0.002607
Ta	-0.000963	-0.002037	-0.002274
PAR	0.000079	0.001061	0.000363
PAR²	0.00000001	0.00000199	0.00000099
VPD	0.038748	0.078483	0.049841
VPD²	0.047163	-0.002281	0.007122

Al analizar el valor predicho versus el valor observado se encontró un coeficiente de determinación $R^2=0.91$ para CP (Figura 4-3a), 0.97 para SAA (Figura 4-3b) y 0.94 para SMD (Figura 4-3c). Lo anterior muestra que los modelos propuestos explican el comportamiento del flujo de savia en relación con las variables ambientales condicionadas a los arreglos agroforestales ($p<0.0001$). En el modelo general (Figura 4-4) se estima para los tres arreglos agroforestales la relación entre V_s real u observada versus la V_s predicha, observándose que la estimación está muy cercana a la línea $y=x$, (Figura 4-4a, 4-4b y 4-4c) siendo el coeficiente de determinación lineal para cada arreglo agroforestal mayor a 0.91 (Figura 4-4). Para el arreglo agroforestal CP, la línea de regresión (línea continua) está un poco por debajo de la recta $y=x$ para valores altos de V_s , indicando que subestima el V_s , y un poco por arriba en los V_s bajos, indicando que en este caso sobreestima (Figura 4-4a).

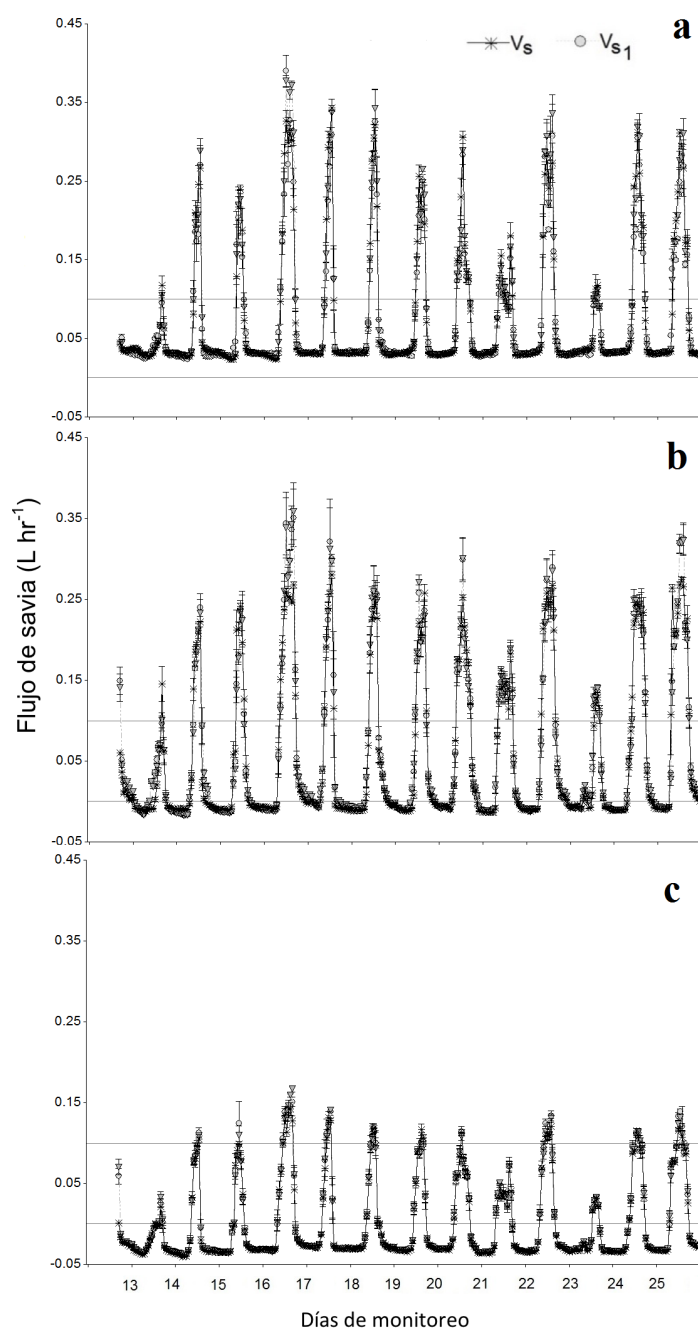


Figura 4-3 Comportamiento en el periodo de monitoreo (época seca, Enero 2015) del flujo de savia en plantas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales a partir del modelo de predicción bajo diferentes arreglos agroforestales: a. Multiestrato diversificado complejo (SMD), b. baja diversidad de árboles agregados (SAA), c. Alta densidad de musáceas (CP). Las líneas horizontales son la referencia del flujo de savia a 0 y 0.1 L hr⁻¹. Los símbolos y barras de error son el valor medio (+/- SE) entre días de V_s a la hora indicada. V_s : Flujo de savia observado, V_{s1} : Flujo de savia modelado.

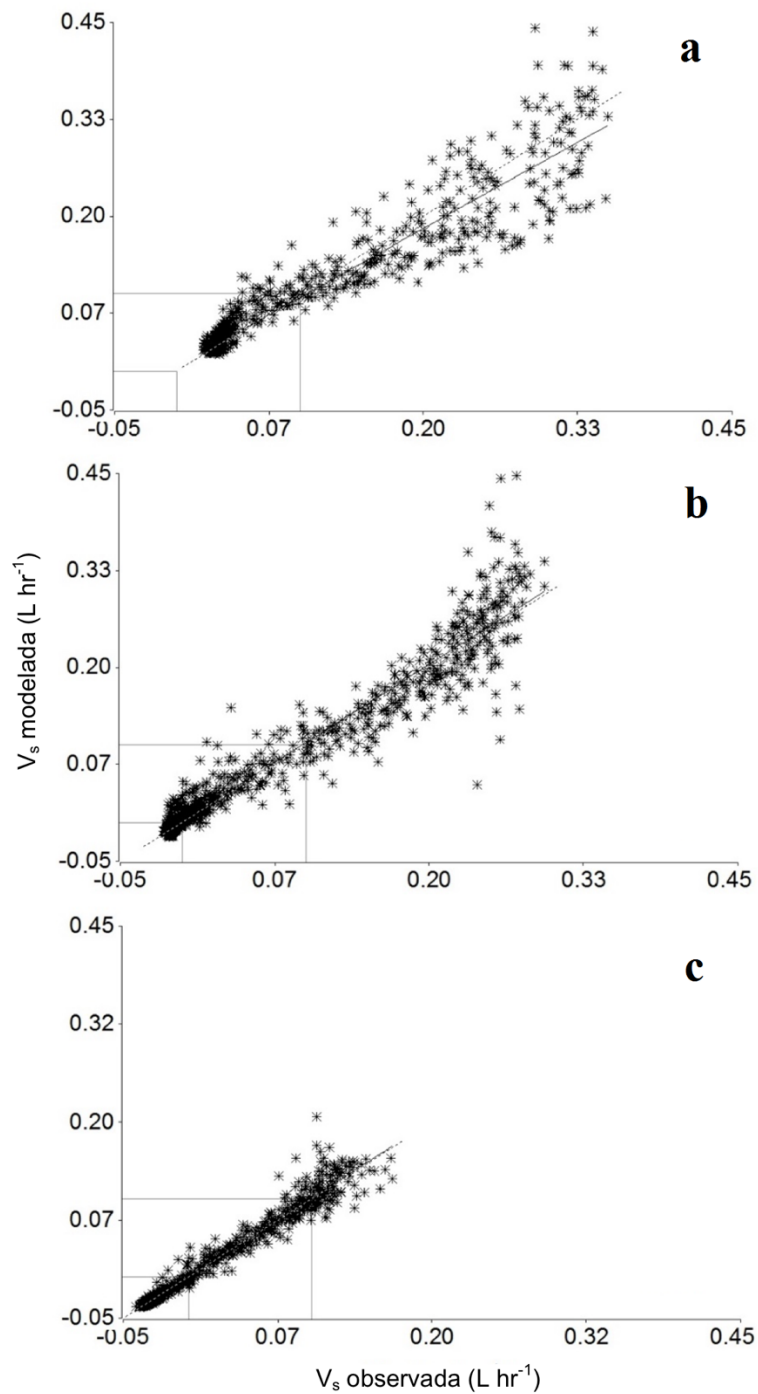


Figura 4-4 Relación entre V_s observada (eje X) versus el V_s modelada (eje Y) obtenidos mediante los modelos de predicción para cada arreglo agroforestal: a. Multiestrato diversificado complejo (SMD), b. baja diversidad de árboles agregados (SAA), c. Alta densidad de musáceas (CP). Las líneas horizontales y verticales son la referencia del flujo de savia a 0 y 0.1 L hr^{-1} .

4.6 Discusión

El patrón de flujo de savia (V_s) del cacao dependió de las condiciones ambientales generales de las plantaciones y varió entre los distintos arreglos agroforestales. El aumento de PAR , T_a y VPD se correlacionó positivamente con los valores de V_s , mientras que esta relación fue negativa con la RH_a . Todo ello indica que las variables ambientales influyeron de forma decisiva sobre el flujo y dirección del V_s tanto en el día como en la noche. El efecto de las condiciones ambientales fue condicionado por el dosel superior de árboles y determinó las variaciones y diferencias en el patrón de V_s en cada uno de los arreglos agroforestales evaluados.

El comportamiento del V_s y la influencia de las variables ambientales son acordes a lo obtenido en otros estudios para el cultivo de cacao (Köhler et al. 2014; López et al. 2012). Así, Köhler et al. (2014) encontraron un efecto significativo de las variables ambientales sobre el V_s en cacaotales bajo diferentes niveles de radiación; al igual López et al. (2012) encontraron variación de la temperatura y radiación sobre el flujo de la transpiración al existir variaciones en el nivel de nubosidad.

El V_s fue positivo en todo el periodo de monitoreo en CP (Figura 4-2), incrementando 0.039 L hr^{-1} en el tronco del árbol de cacao desde las 8:00 horas hasta el mediodía, llegando a su nivel máximo a las 13:00 horas (0.228 L hr^{-1}) con una disminución de 0.031 L hr^{-1} en horas de la tarde, comportamiento similar a lo reportado por Köhler et al. (2014) y López et al. (2012) en árboles de cacao bajo arreglos agroforestales en plantaciones de cacao en Indonesia y México, respectivamente. El comportamiento del V_s en árboles de cacao en CP, donde hubo un sombramiento menor, mayor temperatura y máximos en VPD comparado con los otros arreglos agroforestales, está relacionado con la capacidad de mantener flujos positivos por periodos de tiempo más largos durante el día, que en los otros arreglos agroforestales. Esto es probablemente debido a que la disponibilidad de agua en el suelo en esta región de la Amazonia, aun durante la época seca de monitoreo, fue suficiente para soportar la demanda de agua por la planta, manteniendo estomas abiertos y posibilitando el intercambio de gases (Mott y Peak, 2010) como también la recarga de almacenamiento de agua (Bucci et al. 2016).

Bajo el arreglo CP las condiciones microclimáticas permitieron que las plantas de cacao tuvieran los V_s más altos en el día que en el resto de los arreglos agroforestales y además flujo positivo en la noche que puede ser indicativo de transpiración nocturna, mientras que en SMD y SAA no ocurrió así. Una mayor radiación durante el día en CP junto a un estatus hídrico estable en las plantas gracias a la disponibilidad de agua en

las capas profundas del suelo favoreció tanto el V_s durante el día como en la noche. Además, durante la noche se presentó menor VPD impulsado por un bajo potencial hídrico atmosférico y disminución de la temperatura, que probablemente posibilitó mantener la conductancia estomática; lo anterior soportado por las diferencias ($p < 0.05$) entre los arreglos agroforestales (SMD y SAA) en la noche para T_a , RH_a , y VPD .

En cambio, en el arreglo multiestrato diversificado (SMD) y, en menor medida, en SAA, las plantas de cacao presentaron flujos reversos o basipétalo durante la noche (Burgess et al. 2000), con valores de -0.04 y -0.01 L hr^{-1} , respectivamente. Diversos autores consideran este flujo reverso como indicativo de un proceso pasivo de movimiento de la savia en el sentido de máxima diferencia de potencial de agua entre partes de la planta (ramas, tronco, raíz) y el suelo (Rosado et al. 2012; Oliveira et al. 2005; Burgess et al. 2001). En los arreglos SMD y SAA las plantas de cacao posiblemente tuvieron un potencial hídrico más alto (más cercano a cero) durante la noche que las capas superficiales del suelo que podrían haberse secado durante el día debido a la absorción de agua por parte de la planta y a la evaporación del suelo. Estos flujos reversos de savia suelen ser indicativos de la probable redistribución hidráulica (Gao et al. 2016; Forster, 2014) por parte del cacao en los arreglos SMD y SAA. Para que se produzca esta redistribución hidráulica, es necesario que la transpiración nocturna disminuya lo suficiente para permitir que el potencial en las raíces exceda el de las porciones más secas del perfil del suelo o existir aumentos de gradientes de presión en la atmósfera (mayor cantidad de agua en forma de vapor), contribuyendo significativamente al balance hídrico de la planta de cacao.

El flujo positivo nocturno de savia ocurrido en CP, probablemente inhibe la redistribución hidráulica (Forster, 2014; Zeppel et al. 2014). En este sentido, la redistribución hidráulica, gracias a los flujos reversos, impide el déficit hídrico en el suelo, lo que significa que la existencia de transpiración nocturna puede conducir a suelos más secos y un mayor riesgo de estrés por sequía en las plantas (Domec et al. 2012). Por lo anterior, es probable que el suelo superficial bajo el arreglo CP tuviera un menor contenido de agua en comparación con los arreglos SMD y SAA, debido a la evaporación del agua superficial. Es probable que en SMD y SAA los niveles bajos de VPD y RH_a muy altos hayan inhibido la transpiración nocturna, permitiendo el flujo preferencial de la planta al suelo.

Hay varias diferencias en las condiciones ambientales entre los distintos arreglos agroforestales que pudieron determinar la mayor evaporación del agua del suelo en CP comparado con SMD y SAA: menor humedad relativa (67.94% en CP vs 76.56% en SMD), mayor temperatura diurna (29.75 en CP vs 26.63 en SMD) y el efecto del VPD

atmosférico en el proceso de transpiración de las plantas durante el día, condiciones microclimáticas particulares en los arreglos agroforestales.

La proporción diaria de V_s reversada (i.e., la proporción de flujo que fue de los tejidos de la planta a las raíces y de ahí al suelo) fue del 49.3% en SMD y 5.08% en SAA valores que se encuentran dentro de los rangos reportados por diferentes autores (Rosado et al. 2012; Dawson et al. 2007) para otras especies forestales. Este reverso en el flujo de savia se presenta por la condición microclimática generada por la sombra bajo los arreglos agroforestales que permite mantener la humedad en el ambiente reduciendo el VPD , con ello aumentando la transpiración de soporte (Wheeler y Stroock, 2008). Considerada esta última como el agua disponible en la atmósfera mantenida por el dosel superior, que por gradientes de presión durante la noche es transpirada de manera inversa por el estoma (Vesala et al. 2017).

El modelo de predicción explicó el efecto de los arreglos agroforestales sobre las variables ambientales y del efecto de estas últimas sobre el comportamiento del V_s en el cacao y predice las diferencias entre arreglos agroforestales. La variable con mayor incidencia sobre el V_s fue la PAR que afecta de manera directa a la RH_a y a la T_a , y por ende al VPD . En este sentido, al modificar la estructura agroforestal, la disponibilidad de radiación varía y con ello el V_s . Dentro del modelo se incluyeron variables con ajuste cuadrático (PAR y VPD) logrando predecir con mayor exactitud la V_s en función del arreglo agroforestal, con ello obteniendo un modelo con mayor capacidad de predecir el flujo de savia en función de las variables ambientales. Este modelo predice las diferencias entre CP y los demás arreglos agroforestales, como también entre SAA y SMD e igualmente tiene la potencialidad de predecir situaciones como transpiración nocturna y flujos inversos de savia a partir de las variables microclimáticas producto de la estructura agroforestal. Sin embargo, se sugieren evaluaciones en que se sumen otras variables fisiológicas, otras épocas y años consecutivos de monitoreo para robustecer el modelo.

En la actualidad apenas se conoce cuáles son los efectos de la competencia interespecífica por el consumo de agua entre el dosel de árboles vecinos y las plantas de cacao, más aun con la variación climática que puede generar déficits hídricos; por ello este estudio proporciona una evidencia sobre la redistribución hidráulica para *Theobroma cacao* bajo arreglos agroforestales como también la transpiración nocturna en sistemas tipo CP, en condiciones ambientales de la Amazonía. En este sentido la redistribución hidráulica puede desempeñar un papel fundamental sobre el balance hídrico del cacao siendo probablemente una estrategia frente a condiciones de estrés por déficit hídrico.

El resultado del V_s obtenido en el modelo muestra la relación de las variables ambientales de cada uno de los arreglos agroforestales, la cual puede variar según el dosel de sombra que tenga en un cacaotal. Desde el punto de vista agronómico, los resultados obtenidos genera aproximaciones que podrían tenerse en cuenta para el manejo de los cacaotales en la Amazonía, los cuales pueden implementarse con sombra temporal transmitida generada por ejemplo por la asociación cacao-plátano (CP) u otro que permita sombra temporal, teniendo de esa manera mayor V_s diario y nocturno que posiblemente incrementará la productividad de las plantaciones, y a la vez en cercanías mantenimiento de sistemas SMD y SAA que generan un buen balance hídrico para el sistema cacaotal y para los suelos por la redistribución hidráulica encontrada .

4.7 Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con la colaboración financiera de COLCIENCIAS mediante fondos BID en el marco del proyecto “Caracterización y tipificación de plantaciones tradicionales de *Theobroma cacao* L. como estrategia de diseño e implementación de arreglos agroforestales en el Bajo Caguán (Cartagena del Chaira)” ejecutado por la Universidad de la Amazonía mediante contrato de especial de cooperación 590 de 2012, y mediante fondos de Formación Doctoral de la Universidad de la Amazonia por medio de la estampilla “Prodesarrollo de la Universidad de la Amazonia” Ley No 1301 del 2009. CA is grateful to the Spanish Government for her “Ramón y Cajal” contract (RYC-2012-12277).

4.8 Referencias bibliográficas

- Ahrends, B., Penne, C., Panferov, O., 2010. Impact of target diameter harvesting on spatial and temporal pattern of drought risk in forest ecosystems under climate change conditions. *Open Geogr. J.* 3, 91–102. <http://dx.doi.org/10.2174/1874923201003010091>.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., Smith, M., 2006. Evapotranspiración del cultivo: Guías para determinación los requerimientos de agua de los cultivos. Roma: FAO. Estudio Riego e Drenaje 56. 298 pp.
- Aranda, I., Forner, A., Cuesta, B., Valladares, F., 2012. Species-specific water use by forest tree species: From the tree to the stand. *Agricultural Water Management*, 114, 67-77. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2012.06.024>.
- Balasimha, D., 2016. Cocoa and Cashew. In *Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops* (pp. 307-319). Springer India. 307-319. http://dx.doi.org/10.1007/978-81-322-2725-0_16.
- Belsley, D. A., Kuh, E., Welsch, R. E., 2005. Regression diagnostics: Identifying influential data and sources of collinearity. Vol. 571. John Wiley & Sons. <http://dx.doi.org/10.1002/0471725153>.
- Bleby, T.M., Burgess, S.S.O., Adams, M.A., 2004. A validation, comparison and error analysis of two heat-pulse methods for measuring sap flow in *Eucalyptus marginata* saplings. *Functional Plant Biology* 31, 645–658. <http://dx.doi.org/10.1071/FP04013>.
- Bucci, S. J., Goldstein, G., Scholz, F. G., Meinzer, F. C., 2016. Physiological Significance of Hydraulic Segmentation, Nocturnal Transpiration and Capacitance in Tropical Trees: Paradigms Revisited. In *Tropical Tree Physiology* (pp. 205-225). Springer International Publishing. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-319-27422-5_9.
- Burgess, S. S., Pate, J. S., Adams, M. A., Dawson, T. E., 2000. Seasonal water acquisition and redistribution in the Australian woody phreatophyte, *Banksia prionotes*. *Annals of Botany*, 85(2), 215-224. <http://dx.doi.org/10.1006/anbo.1999.1019>.
- Burgess, S.S.O., Adams, M.A., Turner, N.C., Beverly, C.R., Ong, C.K., Khan, A.A.H., Bleby, T.M., 2001. An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of

sap flow in woody plants. *Tree Physiology* 21, 589–598.
<http://dx.doi.org/10.1093/treephys/21.9.589>.

Burgess, S.S.O., Adams, M.A., Turner, N.C., Ong, C.K., 1998. The redistribution soil water by tree root systems. *Oecologia* 115,306–311.
<http://dx.doi.org/10.1007/s004420050521>.

Chuang, Y.L., Oren, R., Bertozzi, A.L., Phillips, N., Katul, G.G., 2006. The porous media model for the hydraulic system of a conifer tree: linking sap flux data to transpiration rate. *Ecol. Modell.* 191 (3–4), 447–468. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2005.03.027>.

Daley, M. J; N. G. Phillips., 2006. Interspecific variation in nighttime transpiration and stomatal conductance in a mixed New England deciduous forest. *Tree Physiology* 26:411–419. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/26.4.411>.

David, T. S., Ferreira, M. I., Cohen, S., Pereira, J. S., David, J. S., 2004. Constraints on transpiration from an evergreen oak tree in southern Portugal. *Agricultural and Forest Meteorology* 122(3):193-205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2003.09.014>

Dawson, T. E., Burgess, S. S. O., Tu, K. P., Oliveira, R. S., Santiago, L. S., Fisher, J. B., Simonin, K. A., Ambrose, A. R., 2007. Night time transpiration in woody plants from contrasting ecosystems. *Tree Physiol* 27:561–575.
<https://dx.doi.org/10.1093/treephys/27.4.561>.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Dierick, D., Kunert, N., Köhler, M., Schwendenmann, L., Hölscher, D., 2010. Comparison of tree water use characteristics in reforestation and agroforestry stands across the tropics. In *Tropical Rainforests and Agroforests under Global Change* (pp. 293-308). Springer Berlin Heidelberg. http://dx.doi.org/10.1007/978-3-642-00493-3_13.

Domec, J. C., Ogée, J., Noormets, A., Jouangy, J., Gavazzi, M., Treasure, E., Sun, G., McNulty, S.G., King, J.S. 2012. Interactive effects of nocturnal transpiration and climate change on the root hydraulic redistribution and carbon and water budgets of southern United States pine plantations. *Tree Physiol.* 32:707-723.
<http://dx.doi.org/10.1093/treephys/tps018>.

Fernandes, T. J., Del Campo, A. D., Herrera, R., Molina, A. J., 2016. Simultaneous assessment, through sap flow and stable isotopes, of water use efficiency (WUE) in thinned pines shows improvement in growth, tree-climate sensitivity and WUE, but not in WUEi. *Forest Ecology and Management*, 361, 298-308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.11.029>.

Fiora, A., Cescatti, A., 2006. Diurnal and seasonal variability in radial distribution of sap flux density: implications for estimating stand transpiration. *Tree physiology*, 26(9), 1217-1225. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/26.9.1217>.

Ford, C. R., Goranson, C. E., Mitchell, R. J., Will, R. E., Teskey, R. O., 2004. Diurnal and seasonal variability in the radial distribution of sap flow: predicting total stem flow in *Pinus taeda* trees. *Tree Physiology*, 24(9), 951-960. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/24.9.951>

Forster, M. A., 2014. How significant is nocturnal sap flow?. *Tree physiology*, 34(7), 757-765. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/tpu051>.

Gao, J., Zhou, J., Sun, Z., Niu, J., Zhou, C., Gu, D., Zhao, P., 2016. Suppression of nighttime sap flux with lower stem photosynthesis in *Eucalyptus* trees. *International journal of biometeorology*, 60(4), 545-556. <http://dx.doi.org/10.1007/s00484-015-1050-6>.

Ghimire, C. P., Lubczynski, M. W., Bruijnzeel, L. A., Chavarro-Rincón, D., 2014. Transpiration and canopy conductance of two contrasting forest types in the Lesser Himalaya of Central Nepal. *Agricultural and Forest Meteorology* 197:76-90. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2014.05.012>.

Guan, D. X., Zhang, X. J., Yuan, F. H., Chen, N. N., Wang, A. Z., Wu, J. B., Jin, C. J., 2012. The relationship between sap flow of intercropped Young poplar trees (*Populus euramericana* cn. N3016) and environmental factors in a semiarid region of northeastern China. *Hydrol Process* 26:2925–2937. <http://dx.doi.org/10.1002/hyp.8250>.

Hernández-Santana, V., Fernández, J. E., Rodríguez-Dominguez, C. M., Romero, R., Diaz-Espejo, A., 2016. The dynamics of radial sap flux density reflects changes in stomatal conductance in response to soil and air water deficit. *Agricultural and Forest Meteorology*, 218, 92-101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.11.013>.

Horna, V., Schuldt, B., Brix, S., Leuschner, C., 2011. Environment and tree size controlling stem sap flux in a perhumid tropical forest of Central Sulawesi, Indonesia. *Annals of forest science*, 68(5), 1027-1038. <http://dx.doi.org/10.1007/s13595-011-0110-2>.

Huang, J., Zhou, Y., Yin, L., Wenninger, J., Zhang, J., Hou, G., Zhang, E., Uhlenbrook, S., 2015. Climatic controls on sap flow dynamics and used water sources of *Salix psammophila* in a semi-arid environment in northwest China. *Environmental Earth Sciences* 73(1):289-301. <http://dx.doi.org/10.1007/s12665-014-3505-1>.

Juhász, Á., Sepsi, P., Nagy, Z., Tőkei, L., Hrotkó, K., 2013. Water consumption of sweet cherry trees estimated by sap flow measurement. *Scientia Horticulturae*, 164, 41-49. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2013.08.022>.

Juice, S. M., Templer, P. H., Phillips, N. G., Ellison, A. M., Pelini, S. L., 2016. Ecosystem warming increases sap flow rates of northern red oak trees. *Ecosphere*, 7(3), e01221. <http://dx.doi.org/10.1002/ecs2.1221>.

Köhler, M., Dierick, D., Schwendenmann, L., Hölscher, D., 2009. Water use characteristics of cacao and *Gliricidia* trees in an agroforest in Central Sulawesi, Indonesia. *Ecohydrology*, 2(4), 520-529. <http://dx.doi.org/10.1002/eco.67>.

Köhler, M., Hanf, A., Barus, H., & Hölscher, D., 2014. Cacao trees under different shade tree shelter: effects on water use. *Agroforestry systems*, 88(1), 63-73. <http://dx.doi.org/10.1007/s10457-013-9656-3>.

Köhler, M., Schwendenmann, L., Hölscher, D., 2010. Throughfall reduction in a cacao agroforest: tree water use and soil water budgeting. *Agricultural and forest meteorology*, 150(7), 1079-1089. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2010.04.005>.

Lin, B. B., 2010. The role of agroforestry in reducing water loss through soil evaporation and crop transpiration in coffee agroecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(4), 510-518. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2009.11.010>.

Liu, C., Du, T., Li, F., Kang, S., Li, S., Tong, L., 2012. Trunk sap flow characteristics during two growth stages of apple tree and its relationships with affecting factors in an arid region of northwest China. *Agricultural Water Management*, 104, 193-202. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2011.12.014>.

Looker, N., Martin, J., Jencso, K., Hu, J., 2016. Contribution of sapwood traits to uncertainty in conifer sap flow as estimated with the heat-ratio method. *Agricultural and Forest Meteorology*, 223, 60-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2016.03.014>.

López-López, R; Ojeda-Bustamante, W; López, A; Catalán-Valencia, E. 2013. Método de pulso de calor y flujo de savia para medirla transpiración en el cultivo de cacao. *Revista Chapingo Serie Zonas Áridas*. 12(2)85-96.

Madurapperuma, W. S., Bleby, T. M., Burgess, S. S., 2009. Evaluation of sap flow methods to determine water use by cultivated palms. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3), 372-380. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2009.04.002>.

Mott, K. A., Peak, D., 2010. Stomatal responses to humidity and temperature in darkness. *Plant, Cell and Environment*, 33(7), 1084-1090. <http://dx.doi.org/10.1007/BF00344837>.

Muñoz-Villers, L. E., Holwerda, F., Gómez-Cárdenas, M., Equihua, M., Asbjornsen, H., Bruijnzeel, L. A., Tobón, C., 2012. Water balances of old-growth and regenerating montane cloud forests in central Veracruz, Mexico. *Journal of Hydrology*, 462, 53-66. <http://dx.doi.org/j.jhydrol.2011.01.062>.

Niu, G. Y., Troch, P. A., Paniconi, C., Scott, R. L., Durcik, M., Zeng, X., Pelletier, J., 2014. An integrated modelling framework of catchment-scale ecohydrological processes: 2. The role of water subsidy by overland flow on vegetation dynamics in a semi-arid catchment. *Ecohydrology*, 7(2):815-827. <http://dx.doi.org/10.1002/eco.1405>.

Oguntunde, P. G., 2005. Whole-plant water use and canopy conductance of cassava under limited available soil water and varying evaporative demand. *Plant Soil* 278:371–383. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-005-0375-z>.

Oliveira, R. S., Dawson, T. E., Burgess, S. S., Nepstad, D. C., 2005. Hydraulic redistribution in three Amazonian trees. *Oecologia*, 145(3), 354-363. <http://dx.doi.org/10.1007/s00442-005-0108-2>.

Ortuno, M. F., Garcia-Orellana, Y., Conejero, W., Ruiz-Sánchez, M. C., Moounzer, O., Alarcon, J. J., Torrecillas, A., 2006. Relationship between climatic variables and sap flow, stem water potential and maximum daily trunk shrinkage in lemon trees. *Plant Soil* 279:229–242. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-005-1302-z>.

Pimentel, J. D. S., Silva, T. J., Borges, J. C. F., Folegatti, M. V., Montenegro, A. A., 2010. Estimativa da transpiração em cafeeiros utilizando-se sensores de dissipação térmica. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 14(2), 187-195. <http://dx.doi.org/10.1590/S1415-43662010000200010>.

Pinheiro, J., Bates, D., Debroy, S., Sarkar, D., 2015. *Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R package version 3.1-120, En <http://CRAN.R-project.org/package=nlme>. <http://dx.doi.org/10.4172/2155-6180.1000290>.

R Development Core Team. 2017. *R: A language and environment for statistical computing*. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>

Rosado, B. H. P., Oliveira, R. S., Joly, C. A., Aidar, M. P. M., Burgess, S. S. O., 2012. Diversity in night time transpiration behavior of woody species of the Atlantic Rain Forest, Brazil. *Agricultural and Forest Meteorology* 158–159:13–20. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.02.002>.

Rousseaux, M. C., Figuerola, P. I., Correa-Tedesco, G., Searles, P. S., 2009. Seasonal variations in sap flow and soil evaporation in an olive (*Olea europaea* L.) grove under two irrigation regimes in an arid region of Argentina. *Agricultural Water Management*, 96(6), 1037-1044. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2009.02.003>.

Siriri, D., Wilson, J., Coe, R., Tenywa, M. M., Bekunda, M. A., Ong, C. K., Black, C. R., 2013. Trees improve water storage and reduce soil evaporation in agroforestry systems on bench terraces in SW Uganda. *Agroforestry systems*, 87(1), 45-58. <http://dx.doi.org/10.1007/s10457-012-9520-x>.

Tezara, W., Urich, R., Jaimez, R., Coronel, I., Araque, O., Azocar, C., Chacón, I., 2016. Does Criollo cocoa have the same ecophysiological characteristics than Forastero?. *Botanical Sciences*, 94(3), 563-574. <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.552>.

Vesala, T., Sevanto, S., Grönholm, T., Salmon, Y., Nikinmaa, E., Hari, P., Hölttä, T., 2017. Effect of leaf water potential on internal humidity and CO₂ dissolution: Reverse transpiration and improved water use efficiency under negative pressure. *Frontiers in Plant Science*, 8. <http://dx.doi.org/10.3389/fpls.2017.00054>.

Wheeler, T. D., Stroock, A. D., 2008. The transpiration of water at negative pressures in a synthetic tree. *Nature*, 455(7210), 208-212. <http://dx.doi.org/10.1038/nature07226>.

Yin, L., Zhou, Y., Huang, J., Wenninger, J., Hou, G., Zhang, E., Uhlenbrook, S., 2014. Dynamics of willow tree (*Salix matsudana*) water use and its response to environmental factors in the semi-arid Hailu River catchment, Northwest China. *Environmental earth sciences*, 71(12), 4997-5006. <http://dx.doi.org/10.1007/s12665-013-2891-0>.

Zeppel, M., Macinnis-Ng, C. M., Ford, C. R., Eamus, D., 2008. The response of sap flow to pulses of rain in a temperate Australian woodland. *Plant and Soil*, 305(1-2), 121-130. <http://dx.doi.org/10.1007/s11104-007-9349-7>.

Zeppel, M. J. B., Lewis, J. D., Phillips, N. G., Tissue, D. T., 2014. Consequences of nocturnal water loss: a synthesis of regulating factors and implications for capacitance, embolism and use in models. *Tree Physiology*, 34(10), 1047-1055. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/tpu089>.

5. Capítulo 5. Limitaciones de la fotosíntesis en hojas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en la amazonia colombiana

5.1 Resumen

El cacao (*Theobroma cacao* L.) ha sido tradicionalmente considerado como un cultivo tolerante a la sombra, por ello se implementa bajo arreglos agroforestales con el objetivo de regular el nivel de sombrero o de radiación para lograr una mayor eficiencia fisiológica. En este sentido, se diseñó un experimento bajo arreglos agroforestales con plantas de cacao en la Amazonía colombiana, en el que se examinaron, el comportamiento fisiológico (i. variables fotosintéticas a través de curvas de respuesta al CO₂, ii. parámetros de fluorescencia de la *Chl_a*, iii. Contenido de clorofilas totales y carotenoides) frente a diferentes regímenes de radiación generados por el sombrero de arreglos agroforestales que difieren en su composición (árboles acompañantes) y estructura del cultivo (i. *Alta densidad de musáceas* (CP), ii. *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA), iii. *Multiestrato diversificado* (SMD)). En general, las plantas expuestas a mayor radiación solar (menor sombrero, arreglo CP) comparadas con las crecidas bajo menor radiación solar (mayor sombrero, arreglo SMD) presentaron mayor tasa neta de asimilación de carbono (*A*) (8.09 ± 0.1078 frente a $3.28 \pm 0.1153 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), mayor tasa máxima de carboxilación (*V_{Cmax}*) (24.98 ± 0.87 frente a $17.76 \pm 1.28 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y mayor tasa de regeneración de RuBP controlada por el transporte de electrones (*J_{max}*) (48.19 ± 1.37 frente a $46.27 \pm 4.78 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Bajo las condiciones del cultivo evaluadas, las hojas de cacao sometidas a mayor radiación (CP) mostraron

mecanismos de fotoprotección en comparación con las hojas de plantas bajo mayor sombrero. Se encontró mayor coeficiente de disipación no fotoquímico (q_{NP}) en paralelo con ajustes bioquímicos (i.e concentración de pigmentos) y morfológicos (i.e área foliar específica), en aquellas plantas sometidas a mayor radiación (CP). Este estudio demuestra que la capacidad y el comportamiento fisiológico del cacao crecido bajo condiciones de alta radiación (pocas horas de sombrero durante el día, generado por el arreglo agroforestal) pueden ser óptimos gracias a la maquinaria fotosintética y mecanismos de disipación de energía (i.e bioquímico y morfológico). Desde el punto de vista agronómico y debido a la alta nubosidad en la Amazonia colombiana se reduce la disponibilidad de radiación (horas luz), lo que sugiere que los cacaotales en esta región podrían ser manejados con sombra temporal transmitida por arreglos como *Alta densidad de musáceas* (CP), ya que se maximiza el uso de la luz y del carbono y, por tanto, su productividad.

Palabras claves: Theobroma cacao, Irradiancia, Intercambio de gases, Fluorescencia de clorofila, Tolerancia sol / sombra

5.2 Abstract

Cocoa (*Theobroma cacao* L.) has traditionally been considered as a shade-tolerant crop, so it is implemented under agroforestry arrangements in order to regulate the level of shade or radiation to achieve greater physiological efficiency. In this sense, an experiment was designed under agroforestry arrangements with cocoa plants in the Colombian Amazon, in which the physiological behavior was analyzed (i. Photosynthetic variables through response curves to CO_2 , ii. Chl_a , iii) Content of total chlorophylls and carotenoids) against different radiation regimes generated by shady agroforestry arrangements that differ in their composition (companion trees) and crop structure (i. High density of Musaceae (CP), ii. Low diversity of aggregate trees (SAA), iii Diversified multi-layer (SMD)). In general, plants exposed to higher solar radiation (shaded lower, CP arrangement) compared to floods under lower solar radiation (shaded higher, SMD arrangement) presented a higher net rate of carbon assimilation (A) (8.09 ± 0.1078 compared to $3.28 \pm 0.1153 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), highest maximum carboxylation rate (V_{cmax}) (24.98 ± 0.87 vs. $17.76 \pm 1.28 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) and higher regeneration rate of RuBP controlled by electron transport (J_{max}) (48.19 ± 1.37 versus $46.27 \pm 4.78 \mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Under the crop conditions evaluated, the cocoa leaves subjected to higher radiation (CP) showed photoprotection mechanisms in comparison with the leaves of plants under greater shade. A higher coefficient of non-photochemical dissipation (q_{NP}) was found in

parallel with biochemical (i.e concentration of pigments) and morphological (i.e specific foliar area) adjustments in those plants subjected to higher radiation (CP). This study demonstrates that the capacity and physiological behavior of cocoa grown under conditions of high radiation (few hours of darkness during the day, generated by the agroforestry arrangement) can be optimal thanks to the photosynthetic machinery and mechanisms of energy dissipation (ie biochemical and morphological). From the agronomic point of view and due to the high cloudiness in the Colombian Amazon, the availability of radiation (light hours) is reduced, which suggests that the cacao plantations in this region could be managed with temporary shade transmitted by arrangements such as High density of Musaceae. (CP), since it maximizes the use of light and carbon and, therefore, its productivity.

Keywords: *Theobroma cacao*, Irradiance, Gas Exchange, Chlorophyll fluorescence, Sun/shade tolerance

5.3 Introducción

El cacao (*Theobroma cacao* L.) pertenece a la familia Malvaceae (Cuatrecasas, 1964) y es uno de los cultivos perennes más importantes del mundo (ICCO, 2017). Se desarrolla en zonas con altos niveles de precipitación (1500-2000 mm; Carr y Lockwood, 2011). Es nativo de bosques húmedos de la Amazonía (Motamayor et al., 2008) específicamente de la región colombiana brasileña aledaña al río Caquetá (Baker et al., 1953) y se ha desarrollado bajo condiciones de sotobosque.

Es una especie cuyas características fotosintéticas son de una planta umbrófila con niveles de radiación entre 200 a 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Almeida et al., 2014; Acheampong et al., 2013; Daymond et al., 2011; Rada et al., 2005; Da Matta et al., 2001), presenta bajo punto de compensación por luz, entre 5 y 57 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Avila-Lovera et al. 2016; Tezara et al. 2016; Almeida et al. 2014) y tasas fotosintéticas máximas que se encuentran en el rango entre 1 y 8 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Avila-Lovera et al., 2016; Almeida et al., 2014; Daymond et al., 2011; Baligar et al., 2008; Mielke et al., 2005; Balasimha et al., 1991), condiciones que hacen necesario el establecimiento del cultivo de cacao bajo sombra (Tezara et al., 2015; Acheampong et al., 2013; Almeida y Valle, 2007).

En diferentes zonas cacaoteras de Colombia la nubosidad, la radiación y el brillo solar (horas luz) son distintos, por ello se sugiere adaptar la estructura y composición de los arreglos agroforestales (distribución espacial) para generar un nivel adecuado de

sombra para el cacao, debido a su sensibilidad a la alta radiación (Acheampong et al., 2013, 2015; Baligar et al., 2008; Galyuon et al., 1996a, b; Serrano y Biehl, 1996). Así mismo, al implementar doseles de sombra para los cacaotales es posible modificar condiciones microclimáticas (e.g., temperatura, humedad, déficit de presión de vapor) que pueden tener efecto sobre la apertura estomática, la movilidad del agua y la fotosíntesis (Almeida y Valle, 2007; DaMatta, 2007; DaMatta y Ramalho, 2006) así como en su comportamiento agronómico (Araque et al., 2012; Rada et al., 2005; Almeida et al., 2002; Balasimha et al., 1991).

El manejo mediante arreglos agroforestales podría traducirse en una mejora de las condiciones microclimáticas, incluida la reducción de la radiación, lo que probablemente permitiría apertura de los estomas por más tiempo e incremento de las tasas fotosintéticas. Para probar esta hipótesis se diseñó un experimento utilizando arreglos agroforestales que generan diferentes niveles de sombrío o de radiación a las plantas de cacao, donde se evaluaron parámetros de fluorescencia de la *Chl_a* y variables fotosintéticas derivadas del intercambio gaseoso en hojas de cacao.

Hasta el momento se reportan estudios que han analizado el efecto del exceso de radiación sobre el comportamiento del cacao y su relación con la conductancia estomática y la asimilación del CO₂ (Balasimha et al., 2013; Daymond y Hadley, 2004; Balasimha y Namboothiri, 1996; Galyuon et al., 1996b; Balasimba, 1992), pero no directamente bajo los diferentes arreglos agroforestales. Teniendo en cuenta esto, el objetivo del presente trabajo fue analizar su comportamiento y posibles ajustes fisiológicos frente a diferentes niveles de radiación que llegan a las plantas de cacao, dependiendo del tipo de sistema agroforestal utilizado, con el fin de determinar su capacidad fotosintética.

5.4 Materiales y métodos

5.4.1 Sitio de estudio y arreglos agroforestales

Las mediciones se realizaron en plantas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en el Centro de Investigaciones Macagual - Universidad de la Amazonía-Colombia (1°37'N y 75°36'W a 360 m.s.n.m). El clima es de tipo cálido-húmedo, característico del ecosistema de bosque húmedo tropical, con precipitación anual promedio de 3800 mm, brillo solar de 1200 horas año⁻¹, temperatura promedio de 25.5°C y humedad relativa del aire del 84%. Las plantas de cacao fueron plantadas en octubre

del 2012, en un marco de siembra 3×3 m, en tres parcelas o arreglos agroforestales de 25×50 m con 138 plantas de cacao por parcela. Cada arreglo agroforestal incluía a las plantas de cacao y se diferenciaban entre sí en la densidad y tipo de especies acompañantes, que conforman un dosel superior con distintos niveles de sombra. Dos de los arreglos tenían especies acompañantes maderables (*Cariniana pyriformis*, *Calycophyllum spruceanum*) y el tercero incluía a musáceas como sombrío. Los tres arreglos agroforestales de cacao comparados fueron: i. *Alta densidad de musáceas* (CP) con sombra temporal generada por la asociación con plátano (*Musa paradisiaca*, Musa AAB), a una densidad de 127 plantas ha⁻¹, y radiación transmitida de 95% (PAR: 1400 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); ii. *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA) con sombra media generada por el agrupamiento de árboles de copa poco densa (*Cariniana pyriformis*, *Calycophyllum spruceanum*), radiación transmitida promedio de 61% (PAR: 1201 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$) a una densidad de 35 árboles ha⁻¹; iii. *Multiestrato diversificado* (SMD) con sombra intensa y radiación transmitida del 28% (PAR: 681 $\mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$). con una densidad de 55 árboles ha⁻¹. Los factores macro-ambientales (clima general y suelo) fueron iguales para todas las parcelas. Por restricciones experimentales los arreglos agroforestales se realizaron en grandes parcelas y no fueron repetidos. El registro del comportamiento fisiológico se realizó sobre cuatro plantas de cacao escogidas aleatoriamente en cada arreglo. Por la naturaleza clonal y coetánea de las plantas se asume que las diferencias encontradas a nivel fisiológico entre arreglos se deben al efecto de los arreglos sobre las variables microambientales bajo el dosel y al efecto de estas últimas sobre comportamiento fisiológico del cacao, no estando confundidos con otros factores.

5.4.2 Determinación de las condiciones de radiación

La radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) fue medida a 2 m sobre las plantas de cacao en cada estructura agroforestal utilizando una estación meteorológica marca WatchDog 2900ET (Spectrum Technologies, Inc. USA) adaptados con cinco sensores PAR (model QSO-S) almacenados en un datalogger Em50 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). Así mismo, se monitoreó cada minuto la humedad relativa del aire (RH_a %), la temperatura del aire (T_a , °C), y la radiación fotosintéticamente activa (PAR, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Se calculó el déficit presión de vapor (VPD, kPa) a partir de la temperatura del aire y de la humedad relativa registrada cada minuto siguiendo la metodología propuesta por Allen et al. (2006).

5.4.3 Determinación de tasa de fotosíntesis, curvas de respuesta fotosintética a la luz y a CO₂ bajo los diferentes arreglos agroforestales

Se determinó la tasa neta de fotosíntesis (A) de forma simultánea con las mediciones de la fluorescencia de clorofila a (Chl_a). Para la determinación en cada arreglo agroforestal se utilizaron cuatro hojas sanas de cada planta ($n=4$), completamente extendidas, maduras y expuestas del dosel externo, del tercio medio de la planta, usando el analizador de gases infrarrojo CIRAS-3 Portable Photosynthesis System (PP Systems Inc., Amesbury, MA, USA). Las condiciones ambientales en la cámara de la hoja consistieron en un VPD entre un rango de 1.0 a 1.5 kPa y temperatura de 25°C. Las mediciones fueron realizadas entre las 08:00 y 11:00 horas a temperatura de 25°C, 400 ppm de concentración parcial de CO₂ y bajo radiación artificial proporcionada por la fuente de luz LED de la cubeta a nivel de hoja (PP Systems Inc., Amesbury, MA, USA) a nivel de saturación en hojas expuestas al sol, referida como aquella radiación interceptada por el árbol durante todo el día.

Se determinaron diferentes parámetros derivados de la curva de la respuesta de la tasa fotosintética a la intensidad de luz (A/PAR) como la tasa de fotosíntesis máxima (A_{max}), el Punto de Compensación de la Luz (PCL), la Respiración en oscuridad (R_d), el Punto de Saturación por Luz (PSL) y el rendimiento cuántico de la fotosíntesis (Φ_{PSII}). La curva A/PAR fueron generadas incrementando la PAR en diez pasos desde 0 a 2000 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Inicialmente, las condiciones ambientales en la cámara a las cuales fueron expuestas las hojas fue VPD entre 1.0 a 1.5 kPa, temperatura de la hoja 25°C y 50 ppm de concentración parcial de CO₂ durante 5 minutos para permitir la apertura de los estomas; posteriormente, las curvas A/PAR se obtuvieron a concentración parcial de CO₂ de 400 ppm. Así mismo, se determinaron diferentes parámetros derivados de la curva de la respuesta de la tasa fotosintética a la concentración de CO₂ (A/C_i) como la tasa máxima de carboxilación ($V_{c_{max}}$), la tasa máxima de regeneración de RuBP controlada por el transporte de electrones (J_{max}) y la respiración en condiciones de luz (R_D). La curva A/C_i se realizó con base en lo descrito por Long y Bernacchi (2003) y Bernacchi et al. (2001), fue determinada a 500 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación obtenidas a partir de la curva de luz, a 25°C, bajo O₂ ambiental. Las mediciones se iniciaron a una concentración de 400 ppm de presión parcial de CO₂ y gradualmente se redujo hasta 50 ppm y luego se aumentó en 15 pasos hasta llegar a 1600 ppm de presión parcial de CO₂ (Martins et al., 2014; Araujo et al., 2008). Se corrigieron los errores de difusión midiendo las curvas de respuesta de CO₂ en hojas secas siguiendo lo descrito por Flexas et al. (2007).

5.4.4 Determinación de parámetros de fluorescencia Chl_a bajo los diferentes arreglos agroforestales

Se utilizó el módulo de fluorescencia de la clorofila (CFM-3) adaptado al analizador de gases infrarrojo CIRAS-3. El CFM-3 proporciona mediciones de fluorescencia de la clorofila mediante la técnica de pulso de amplitud modulada (PAM). También se determinó el rendimiento máxima fotoquímica potencial del fotosistema II (F_v/F_m), en prealba (4:00 h) en hojas en completa oscuridad por los menos 30 minutos, y posteriormente se las expuso a un pulso de saturación de la luz actínica ($6000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), se utilizaron cuatro árboles de cacao por arreglo y se seleccionaron en el estrato medio de cada árbol cuatro hojas completamente extendidas y sanas. Los valores de F_0 y F_m son utilizados por el equipo para calcular el rendimiento cuántico máximo potencial del $PSII$ (F_v/F_m). Después de que la luz actínica ($500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) se encendió, la hoja se expuso a una serie de pulsos de saturación para obtener el máximo rendimiento de fluorescencia en el estado adaptado a la luz (F'_m). El rendimiento cuántico operacional del $PSII$ (Φ_{PSII}) se determinó en el estado adaptado a la luz, derivado de $(F'_m - F_t)/F'_m$, donde el nivel de fluorescencia inmediatamente antes del flash de saturación se denomina F_t .

El Φ_{PSII} mide la proporción de la luz absorbida por las antenas $PSII$ que se utiliza para el proceso fotoquímico y puede dar una medida de la tasa de transporte de electrones (J , derivado de $\Phi_{PSII} * \text{incidente PAR} * 0.5 * \text{absorción foliar}$), y por lo tanto una indicación de la cantidad total de capacidad fotosintética *in vivo* (Genty et al., 1989). El equipo determina el quenching fotoquímico de fluorescencia de la Chl_a (qP) derivado de $(F'_m - F_T) / (F'_m - F'_0)$, donde F'_0 es la fluorescencia mínima por parte de la hoja adaptada a la luz (cuando todos los centros de reacción $PSII$ y receptores de electrones se vuelven a oxidar usando una luz roja lejana). El qP da una indicación de la proporción de centros de reacción $PSII$ que están abiertos (Baker, 2008; Kramer et al., 2004; Rosenquist y van Kooten, 2003; Maxwell y Johnson, 2000). Además, el quenching no fotoquímico de fluorescencia de la Chl_a (qNP) derivados de $(F_m - F'_m)/F'_m$ da una indicación de la disipación de energía no radiante (pérdida de calor) por la antena captadora de luz del $PSII$.

5.4.5 Determinación del área foliar específica

El área foliar específica (AFE) se determinó en seis discos foliares (3.14 cm^2) de cada hoja utilizada para las mediciones de intercambio de gases y fluorescencia de la clorofila ($n=96$ por cada arreglo agroforestal o sea seis discos por hoja, cuatro hojas por

planta y cuatro plantas por arreglo). Los discos se secaron hasta peso constante a 70° C y el AFE se determinó como la relación entre el área y la masa seca de discos de hoja (Cornelissen et al. 2003).

5.4.6 Determinación de clorofilas totales, carotenoides y Nitrógeno

La determinación de contenido de clorofila a, b, total y carotenoides se realizó según el procedimiento descrito por Lichtenthaler (1987). Se utilizaron discos foliares (3.14 cm²) de las mismas hojas utilizadas para la medición de intercambio de gases, fluorescencia de la clorofila (n=96 por cada arreglo agroforestal) y para la determinación del AFE. La cuantificación de Nitrógeno total se realizó mediante el método de Kjeldahl (Cornelissen et al. 2003) y se determinó debido a que se reporta aclimatación de la maquinaria fotosintética a diferentes niveles de radiación (Rodríguez-López et al. 2013; Araujo et al. 2008).

5.4.7 Análisis de datos

Los datos de A/PAR fueron ajustados al modelo hiperbólico Michaelis-Menten para obtener la tasa de fotosíntesis máxima (A_{max}), el Punto de Compensación por Luz (PCL), la Respiración en oscuridad (R_d), el Punto de Saturación por Luz (PSL) y el Rendimiento Cuántico de PSII (Φ_{PSII}). Para los datos de A/C_i se utilizó el modelo de Farquhar et al. (1980), se estimaron la tasa máxima de carboxilación (V_{cmax}), la tasa máxima de regeneración de RuBP controlada por el transporte de electrones (J_{max}) y la respiración en condiciones de luz (R_D) utilizando el *Package* “PLANTECOPHYS” (Duursma, 2015). Se hicieron análisis de varianza para analizar las diferencias de los diferentes parámetros obtenidos de la curva de A/PAR, A/C_i , AFE, concentraciones de clorofila total, carotenoides, relaciones de Chl/Car , $Chla/b$, $Chla/N$ y concentraciones de nitrógeno, entre los arreglos agroforestales usando la prueba de LSD Fisher ($\alpha=0.01$). Los análisis se llevaron a cabo usando el software R versión 3.4.0 (R Development Core Team, 2017), utilizando la interfaz implementada en InfoStat (Di Rienzo et al., 2017).

5.5 Resultados

La incidencia de los niveles de radiación incidieron en los diferentes parámetros derivados de las curvas de luz ($p<0.05$) (Tabla 5-1). Las plantas de cacao presentaron mayor eficiencia fotosintética en condiciones de pleno sol en el arreglo CP, lo anterior soportado por el aumento fotosintético (A_{max} en función de área y masa, 8.09 $\mu\text{mol m}^{-2}$

s^{-1} y $0.15 \mu\text{mol g DM s}^{-1}$, respectivamente). Por otro lado se encontró que las plantas de cacao en el arreglo SMD presentaron menor punto de compensación lumínica (PCL), una mayor eficiencia cuántica (Φ_{PSII}) y menor tasa respiratoria (R_d). La respuesta de A a C_i (curva A/C_i) muestra que J_{max} fue 4.1% mayor en el arreglo CP comparado con SMD, y la V_{cmax} fue máxima en el arreglo agroforestal CP que recibió mayor nivel de radiación entre arreglos agroforestales (Tabla 5-1).

Tabla 5-1 Parámetros derivados de curvas respuesta fotosintética a la luz (A/PAR) y CO_2 (A/C_i), área foliar específica y pigmentos bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao: Alta densidad de musáceas (CP) que genera poco sombrío y permite paso de 95% de radiación ($1400.6 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$), Baja diversidad de árboles agregados (SAA) que genera sombrío medio, permite paso de 61% de radiación ($1200.8 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$) y Multiestrato diversificado complejo (SMD) que genera alto sombrío y permite paso de radiación de 28% ($680.4 \mu\text{mol m}^{-1} \text{s}^{-2}$). Los resultados muestran las medias \pm (E.E). Valores en filas con distintas letras indican diferencias significativas entre arreglos agroforestales (post-hoc LSD LSD Fisher, $p < 0.05$).

Parámetro	Unidad	CP		SAA		SMD	
A_{max}	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	8.09 \pm 0.1078	a	5.86 \pm 0.1003	b	3.28 \pm 0.1153	c
	$\mu\text{mol g DM s}^{-1}$	0.15 \pm 0.002	a	0.098 \pm 0.001	b	0.048 \pm 0.001	c
R_d	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	2.5 \pm 0.2641	a	0.4768 \pm 0.0959	b	0.3939 \pm 0.1007	b
	$\mu\text{mol g DM s}^{-1}$	0.0372 \pm 0.0039	a	0.0076 \pm 0.0016	b	0.00718 \pm 0.0019	b
PSL	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	473.4 \pm 8.68	b	484.8 \pm 10.61	b	655.2 \pm 23.38	a
PCL	$\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$	15.2 \pm 3.616	b	24.58 \pm 4.18	b	14.73 \pm 1.04	a
Φ_{PSII}	$\mu\text{mol CO}_2 \mu\text{mol fotón}^{-1}$	0.0031 \pm 0.0002	a	0.0032 \pm 0.0002	a	0.0038 \pm 0.0004	a
V_{Cmax}	$\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	24.98 \pm 0.87	a	19.66 \pm 1.50	b	17.76 \pm 1.28	b
J_{max}	$\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	48.19 \pm 1.37	a	36.18 \pm 3.40	b	46.27 \pm 4.78	b
R_D	$\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$	1.58 \pm 0.09	a	0.89 \pm 0.19	b	1.04 \pm 0.20	b
SLA	$\text{m}^2 \text{kg}^{-1}$	14.94 \pm 0.32	a	16.83 \pm 0.26	b	18.59 \pm 0.31	c
Chl_t	$\text{g kg}^{-1} \text{DM}$	1.33 \pm 0.02	b	1.17 \pm 0.01	c	2.04 \pm 0.01	a
Car	$\text{g kg}^{-1} \text{DM}$	0.4 \pm 0.004	a	0.31 \pm 0.004	b	0.3 \pm 0.004	b
Chl/Car	$\text{kg kg}^{-1} \text{DM}$	3.29 \pm 0.03	c	3.83 \pm 0.02	b	7.03 \pm 0.15	a
$Chl a/b$	$\text{kg kg}^{-1} \text{DM}$	2.79 \pm 0.05	b	3.17 \pm 0.04	a	1.28 \pm 0.02	c
Chl/N	$\text{mg kg}^{-1} \text{DM}$	1.99 \pm 0.02	b	1.3 \pm 0.01	c	1.66 \pm 0.01	a
N	$\text{g kg}^{-1} \text{DM}$	12.39 \pm 0.32	c	15.16 \pm 0.18	b	18.38 \pm 0.46	a
	$\text{g m}^{-2} \text{DM}$	0.67 \pm 0.02	c	0.9 \pm 0.01	b	1.23 \pm 0.03	a

A_{max} : Tasa de asimilación de carbono, R_d : Respiración en oscuridad, PSL : Punto de Saturación Lumínica, PCL : Punto de Compensación Lumínica, Φ_{PSII} : Rendimiento Cuántico de $PSII$, V_{Cmax} : Tasa máxima de carboxilación, J_{max} : Máxima tasa de regeneración de RuBP controlada por el transporte de electrones, R_D : Respiración en condiciones de luz, AFE: Área foliar específica, Chl : Concentraciones de clorofila, Car : carotenoides, N : Concentraciones de Nitrógeno.

De acuerdo a los resultados obtenidos por F_v/F_m (0.81 ± 0.01) se muestra que las plantas de cacao bajo los diferentes arreglos agroforestales no presentaron estrés por fotoinhibición. Por otro lado, al analizar los parámetros de fluorescencia de la clorofila, estos fueron estadísticamente diferentes al variar los niveles de radiación bajo los arreglos agroforestales ($p < 0.05$ Figura 5-1). En este sentido, la eficiencia fotoquímica de $PSII$ (Φ_{PSII} Figura 5-1b) y extinción fotoquímica de Chl_a (Es decir, qP Figura 5-1d) disminuyeron gradualmente al incrementar la intensidad de radiación, siendo los valores mínimos en las plantas de cacao bajo el arreglo SMD. La tasa de transporte de electrones (J) fue mayor en las plantas cultivadas bajo CP (8.5 y 18% más altos comparados con SAA y SMD, respectivamente a $1500 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación) y similares en los arreglos SAA y SMD (Figura 5-1a). En las plantas en CP, la disipación térmica de la energía de excitación, expresada por la extinción fotoquímica de Chl_a (qNP Figura 5-1c), mostró tendencias similares a las mostradas para el J calculado, pero se disipó más energía en forma de calor entre los 750 y $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ de radiación.

El área foliar específica fue inversamente proporcional al nivel de radiación, siendo 24.4% menor en CP comparado con SMD (Tabla 5-1). Los niveles de radiación afectaron la concentración de pigmentos fotosintéticos en hoja. En general, las plantas bajo SMD presentaron mayores concentraciones de Chl totales (34.8%), relación Chl/Car (53.2%) y N (45.5%) comparadas con plantas de CP. En cuanto a las concentraciones de Car y la relación Chl/N fue 34.4 y 19.6% respectivamente mayor en CP comparado con SMD, respectivamente. Por último, la concentración de $Chl a/b$ fue mayor en SAA comparado con los otros arreglos agroforestales.

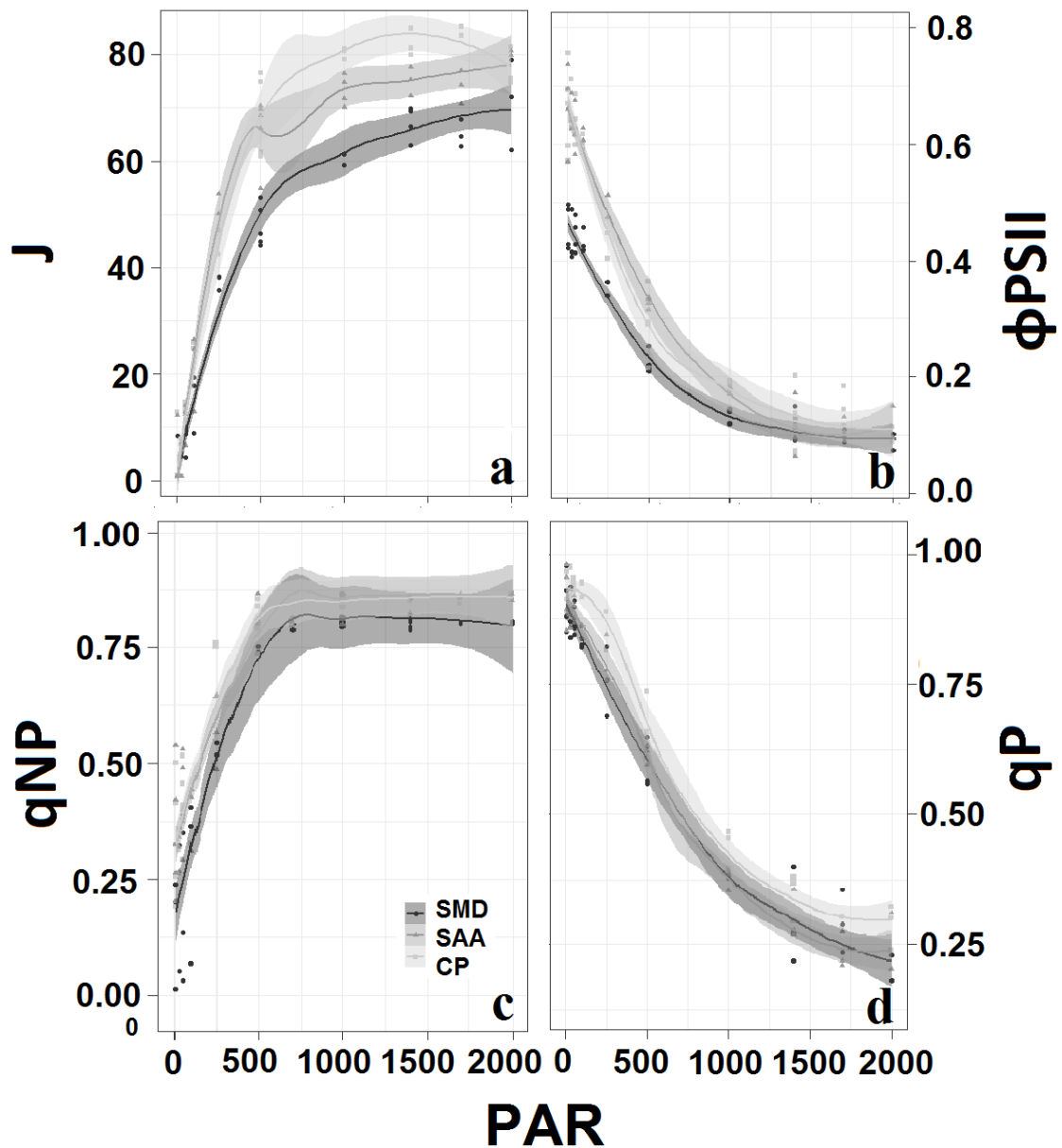


Figura 5-1 Parámetros de fluorescencia de la *Chl_a* derivadas de curvas de luz, a. tasa de transporte de electrones (J), b. rendimiento cuántico del *PSII* (Φ_{PSII}), c. coeficiente de quenching no fotoquímica (qNP), d. coeficiente de quenching fotoquímica (qP).

5.6 Discusión

Al estudiar el comportamiento y los ajustes fisiológicos frente a diferentes regímenes de radiación en el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.), se encontró una adaptación a las condiciones de alta radiación evidente en mayor rendimiento fotosintético (A), mayor capacidad en la disipación de energía y ajustes bioquímicos.

Así, los parámetros obtenidos de las curvas A/PAR indican características de adaptación de las plantas a crecer a mayor radiación (CP, $1400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) donde la cantidad de radiación saturante obtenida por la determinación en curvas de luz estuvo alrededor de $400 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (Ávila-Lovera et al. 2016; Tezara et al. 2016; Almeida et al., 2014; Balasimha et al., 1991) que se traduce en mayor asimilación de carbono ($8,09 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), comparado con plantas que crecen bajo menor radiación como es el caso del arreglo SMD. En condiciones de bajo nivel de radiación solar (SMD) se inhiben el crecimiento y la productividad de las plantas al afectar el intercambio gaseoso (Fu et al. 2017), mientras que el exceso de intensidad luminosa tiene efectos perjudiciales en el aparato fotosintético (Lichtenthaler et al. 2007).

En este caso, en las plantas de cacao crecidas bajo exceso de intensidad luminosa en condiciones de la Amazonia (CP, 95% radiación incidente) no se observó fotoinhibición y mucho menos en los arreglos agroforestales donde los niveles de radiación incidente fueron menores (SAA y SMD). Este óptimo comportamiento fisiológico de cacao sometidas a alta radiación se debe a la alta nubosidad, la cual es característica de la zona donde se realizó el estudio, presentando un brillo solar de 3 a 4 horas diarias (IDEAM, 2017). En este sentido, al solamente presentarse un estrés dinámico en las plantas bajo alto nivel de radiación (CP), se generaron mecanismos de disipación de energía ya sea bioquímico o funcional del aparato fotosintético para evitar daños irreversibles o estrés crónico.

Desde el punto de vista bioquímico, se observó que en las plantas de cacao crecidas a mayor nivel de radiación (CP) comparado con las crecidas en menor radiación (SMD) la concentración de Chl (a+b) se redujo y aumentó carotenoides ligeramente (Chl/Car) al igual la relaciones entre $Chl_{a/b}$ en plantas en pleno sol (CP). Estas reducciones se relacionaron con la disminución de la relación Chl/N , que resulta de una disminución en la biosíntesis de compuestos nitrogenados en la hoja y/o un aumento en la degradación de Chl (Pompelli et al. 2010).

A nivel funcional, cuando la energía luminosa absorbida excede la capacidad de la planta para usar la energía atrapada a través de la fotosíntesis (qP) generalmente se produce un aumento de la disipación de energía en forma de calor (qNP) situación presentada en las plantas de cacao crecidas a mayor nivel de radiación (CP). Al considerar los resultados obtenidos de las curvas de A/PAR y A/Ci , y las concentraciones de los pigmentos fotosintéticos, se observa que las plantas de cacao sometidas a mayor nivel de radiación (CP) presentaron una mayor capacidad de disipar el exceso de energía de excitación, lo anterior soportado por el comportamiento

presentado en Φ_{PSII} , contrario a lo presentado cuando existió mayor nivel de sombra (SMD).

Sin embargo, se observó al incrementar el nivel de sombrero (SMD) sumado a la alta nubosidad de la zona se reduce la cantidad de energía disponible para el proceso de la fotosíntesis (Acheampong et al. 2013). Además de presentarse bajos valores de A en las plantas de cacao creciendo bajo el mayor nivel de sombrero (SMD 28% de radiación incidente), es probable una menor tasa de velocidad en las reacciones bioquímicas (Armbruster et al. 2017). Así mismo, en plantas de cacao creciendo bajo el mayor nivel de sombrero (SMD), pueden darse una baja actividad de enzimas fotosintéticas como la Rubisco (Violet-Chabrand et al. 2017) relacionada con la V_{Cmax} (14.29, para el presente estudio), o enzimas involucradas en la degradación de fotoasimilados (Baker y Rosenqvist, 2004), indicando la necesidad de contar con niveles mínimos de radiación en el cultivo del cacao para el desarrollo de procesos bioquímicos durante la fotosíntesis para lograr una mayor fijación de CO_2 . A mayor incremento de sombra, se presentó menor tasa de A , aunque se produjeran ajustes morfológicos, como el aumento del área foliar específica; sin embargo estos ajustes no fueron capaces de mantener y aumentar la eficiencia fotosintética (Liu et al. 2016). En arreglos agroforestales en condiciones de bajo nivel de radiación (SMD) se presentó correlación positiva entre AFE con altos contenidos de nitrógeno (N), pero esta condición de adaptación morfológica y bioquímica puede ser demasiado costoso en términos de carbono y nitrógeno, limitando el crecimiento de la planta (Wright et al. 2004).

Las plantas de cacao creciendo en el arreglo agroforestal con baja intensidad de radiación (SMD) presentaron mayor área foliar específica (AFE) como mecanismo para maximizar la eficiencia de captura de fotones, aumentando así la capacidad fotosintética (da Silva et al. 2017). Lo anterior promueve la ganancia de carbono (Russo y Kitajima, 2016), para mejorar la relación de la recolección de luz por unidad de recursos invertidos en la construcción de tejidos fotosintéticos (Chaves et al. 2008). Esta adaptación parece estar relacionada con la reducción del espesor de hoja cuando las plantas se someten a baja intensidad luminosa. La reducción del espesor de la hoja es una estrategia para obtener un área superficial más alta hacia una absorción y optimización más eficientes de la captura de fotones. Debido a que existe una disminución en el espesor de la hoja, la disminución causada en la absorción de fotones, debido a la baja intensidad luminosa, es menor y la distribución de la irradiación sobre la superficie de la hoja y las células mesofílicas se mejora (Chmura et al. 2017).

Una de las estrategias adaptación para la supervivencia de la planta bajo sombra es desarrollar valores más bajos de R_d (Guo et al. 2016). La variación de R_d es un proceso de mantenimiento necesario para la supervivencia, por lo tanto, siendo la luz un factor limitante para la ganancia de carbono y el crecimiento bajo sombra, el costo del crecimiento de la planta es generalmente más bajo. Por lo tanto, la fotosíntesis requiere maximizar la absorción de luz, minimizando al mismo tiempo el coste respiratorio asociado con una alta capacidad fotosintética (Martins et al. 2013).

En conclusión, este trabajo muestra que bajo las condiciones de pleno sol (*CP*) las plantas de cacao presentan rendimientos óptimos de asimilación de carbono, demostrando aclimatación fotosintética a regímenes alto de radiación lo que significa una mayor lograr una mayor fijación de CO_2 . Al considerarse la planta de cacao demandante de sombra, se encontró que bajo las condiciones de la amazonia las plantas de cacao se puedan cultivar en monocultivos en vez de sombra debido a que la mayoría de los días hay baja radiación debido a una permanente alta nubosidad. Esta condición de nubosidad presentada en la amazonia es muy distinta a lo encontrado en diferentes lugares de Colombia y en el mundo por ello es necesario hacer este tipo de estudios en función de las condiciones climáticas en cada región para poder dar recomendaciones acertadas a los productores, lo cual es importante ya que el cultivo de cacao es uno de los cultivos perennes más importantes del mundo y fuente económica principal en muchas regiones.

5.7 Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con la colaboración financiera de COLCIENCIAS mediante fondos BID en el marco del proyecto “Caracterización y tipificación de plantaciones tradicionales de *Theobroma cacao* L. como estrategia de diseño e implementación de arreglos agroforestales en el Bajo Caguán (Cartagena del Chaira)”, ejecutado por la Universidad de la Amazonía mediante contrato de especial de cooperación 590 de 2012 y mediante fondos de Formación Doctoral de la Universidad de la Amazonia por medio de la estampilla “Prodesarrollo de la Universidad de la Amazonia” Ley No 1301 del 2009. CA received a “Ramón y Cajal” research contract (RYC-2012-12277) from the Spanish Government.

5.8 Referencias bibliográficas

- Acheampong, K., Hadley, P., Daymond, A. J. 2013. Photosynthetic activity and early growth of four cacao genotypes as influenced by different shade regimes under West African dry and wet season conditions. *Experimental Agriculture*, 49(01), 31-42.
- Acheampong, K., Hadley, P., Daymond, A. J., Adu-Yeboah, P. 2015. The Influence of Shade and Organic Fertilizer Treatments on the Physiology and Establishment of *Theobroma cacao* Clones. *American Journal of Experimental Agriculture*, 6(6), 347.
- Almeida, A. A. F. D., Valle, R. R. 2007. Ecophysiology of the cacao tree. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 425-448.
- Almeida, A.-A. F; Brito, R. C. T; Aguilar, M. A. G; De Valle, R. R. 2002. Water relations' aspects of *Theobroma cacao* L. clones. *Agrotrópica* 14:35–44.
- Almeida, A.-A.F; Gomes, F.P; Araujo, R.P; Santos R.C; Valle, R.R. 2014. Leaf gas exchange in species of the *Theobroma* genus. *Photosynthetica* 52 (1): 16-21, 2014.
- Almeida, J., Tezara, W; Herrera, A. 2016. Physiological responses to drought and experimental water deficit and waterlogging of four clones of cacao (*Theobroma cacao* L.) selected for cultivation in Venezuela. *Agricultural Water Management*, 171, 80-88.
- Araque, O; Jaimez, R; Tezara, W; Coronel, I; Urich, R; Espinoza, W. 2012. Comparative photosynthesis, water relations, Growth and survival rates in juvenile criollo Cacao cultivars (*Theobroma cacao*) during dry and wet seasons. *Expl Agric.* 48(4):513–522.
- Araújo WL, Dias PC, Moraes GABK, Celin EF, Cunha RL, Barros RS, DaMatta FM 2008. Limitations to photosynthesis in coffee leaves from different canopy positions. *Plant Physiology and Biochemistry* 46:884-90.
- Avila-Lovera, E., Coronel, I., Jaimez, R., Urich, R., Pereyra, G., Araque, O., ... & Tezara, W. 2016. Ecophysiological traits of adult trees of Criollo cocoa cultivars (*Theobroma cacao* L.) from a germplasm bank in Venezuela. *Experimental Agriculture*, 52(01), 137-153.
- Baker NR, Rosenqvist E. 2004. Applications of chlorophyll fluorescence can improve crop production strategies: an examination of future possibilities. *J Exp Bot.* 55:1607–21

Baker NR. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annu Rev Plant Biol* 59:659–668.

Baker, R.E.D; Cope, F.W; Holliday, P.C; Bartley, B.G; Taylor, D.J. 1953. The Anglo-Colombian cacao collecting expedition. Report of Cacao Research, Imperial College of Tropical Agriculture, Trinidad 9: 8-29 pp.

Balasimha, D; Daniel, E. V; Prakash, B. 1991. Influence of environmental factor on photosynthesis in cacao tree. *Agricultural and Forest Meteorology* 55:15–21.

Balasimha, D; Namboothiri, C.G.N. 1996. Chlorophyll fluorescence of cocoas in relation to drought tolerance. *Plant Physiology and Biochemistry* 23: 64-66

Balasimha, D. 1992. Net CO₂ assimilation and chlorophyll fluorescence in cocoa trees. *Plant Physiology and Biochemistry* 19: 23-26.

Balasimha, D., Apshara, S. E., Jose, C. T. 2013. Genotypic variations in chlorophyll fluorescence and stomatal conductance of cocoa in relation to drought tolerance. *Journal of Plantation Crops*, 41(1), 40-45.

Baligar, V. C; Bunce, J.A; Machado, R.C. R; Elson, M. K. 2008. Photosynthetic photon flux density, carbon dioxide concentration, and vapor pressure deficit effects on photosynthesis in cacao seedlings. *Photosynthetica* 46 (2): 216-221.

Carr, M. K. V., & Lockwood, G. 2011. The water relations and irrigation requirements of cocoa (*Theobroma cacao* L.): a review. *Experimental Agriculture* 47(04), 653-676.

Cornelissen, J. H. C., Lavorel, S., Garnier, E., Diaz, S., Buchmann, N., Gurvich, D. E., Pausas, J. G. (2003). A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian journal of Botany*, 51(4), 335-380.

Cuatrecasas, J. 1964. Cacao and its allies: a taxonomic revision of the genus *Theobroma*. *Contribution US Herbarium* 35: 379–614.

Chaves ARM, Ten-Caten A, Pinheiro HA, Ribeiro A, DaMatta FM. Seasonal changes in photoprotective mechanisms of leaves from shaded and unshaded field-grown coffee (*Coffea arabica* L.) trees. *Trees* 2008;22:351–61.

Chmura, D. J., Modrzyński, J., Chmielarz, P., Tjoelker, M. G. 2017. Plasticity in seedling morphology, biomass allocation and physiology among ten temperate tree species in response to shade is related to shade tolerance and not leaf habit. *Plant Biology*.

da Silva Branco, M. C., de Almeida, A. A. F., Dalmolin, Â. C., Ahnert, D., Baligar, V. C. 2017. Influence of low light intensity and soil flooding on cacao physiology. *Scientia Horticulturae*, 217, 243-257.

DaMatta, F. M; Loos, R. A; Rodrigues, R; Barros, R. S. 2001. Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13:24–32

DaMatta, F. M. 2007. Ecophysiology of tropical tree crops: an introduction. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 19(4), 239-244.

DaMatta, F. M., Ramalho, J. D. C. 2006. Impacts of drought and temperature stress on coffee physiology and production: a review. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 55-81.

Daymond, A. J., Hadley, P. 2004. The effects of temperature and light integral on early vegetative growth and chlorophyll fluorescence of four contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of applied biology* 145(3):257-262.

Daymond, A.J; Tricker, P.J; Hadley, P. 2011. Genotypic variation in photosynthesis in cacao is correlated with stomatal conductance and leaf Nitrogen. *Biologia plantarum* 55 (1):99-104.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo infostat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>.

Duursma, R. A. 2015. Plantecophys - An R Package for Analysing and Modelling Leaf Gas Exchange Data. *PLoS ONE* 10(11): e0143346.

Farquhar G.D., von Caemmerer, S; Berry J.A. 1980. Abiochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C species. *Planta* 149, 78–90.

Flexas, J., Diaz-Espejo, A., Berry, J. A., Cifre, J., Galmes, J., Kaldenhoff, R., Medrano, H; Ribas-Carbo, M. 2007. Analysis of leakage in IRGA's leaf chambers of open gas exchange systems: quantification and its effects in photosynthesis parameterization. *Journal of Experimental Botany*, 58(6), 1533-1543.

Fu, Y., Li, H., Yu, J., Liu, H., Cao, Z., Manukovsky, N. S., & Liu, H. 2017. Interaction effects of light intensity and nitrogen concentration on growth, photosynthetic

characteristics and quality of lettuce (*Lactuca sativa* L. Var. *youmaicai*). *Scientia Horticulturae*, 214, 51-57.

Galyuon, I. K. A; Mcdavid, C. R; Lopez, F. B; Spence, J. A. 1996a. The effect of irradiance level on cocoa (*Theobroma cacao* L.): I. Growth and leaf adaptations. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 73:23–28.

Galyuon, I.K.A; McDavid, C.R; Lopez, F.B; Spence, J. 1996b. The effect of irradiance level on cocoa (*Theobroma cacao* L.): II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence. - *Trop. Agr.* 73: 29-33.

Genty, B., Briantais, J. M., & Baker, N. R. 1989. The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990(1), 87-92.

Guo, Y. H., Yuan, C., Tang, L., Peng, J. M., Zhang, K. L., Li, G., & Ma, X. J. 2016. Responses of clonal growth and photosynthesis in *Amomum villosum* to different light environments. *Photosynthetica*, 54(3), 396-404.

Havaux, M., Tardy, F. 1999. Loss of chlorophyll with limited reduction of photosynthesis as an adaptive response of Syrian barley landraces to high-light and heat stress. *Functional Plant Biology*, 26(6), 569-578.

ICCO (International Cocoa Organization). 2017. Quarterly Bulletin of Cocoa Statistics, Vol. XL, No. 1, Cocoa year 2015/16.

Jahns, P., Holzwarth, A. R. 2012. The role of the xanthophyll cycle and of lutein in photoprotection of photosystem II. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 1817(1), 182-193.

Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE. 2004. New fluorescence parameters for the determination of Q redox state and excitation energy fluxes. *Photosynth Res* 79:209–218.

Lichtenthaler, H.K. 1987. Chlorophylls and crotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol.* 148:350-382.

Lichtenthaler, H.K., Marek, M.V., Kalina, J., Urban, O., 2007. Differences in pigment composition, photosynthetic rates and chlorophyll fluorescence images of sun and shade leaves of four tree species. *J. Plant Physiol. Biochem.* 45, 577–588.

Liu, Y., Dawson, W., Prati, D., Haeuser, E., Feng, Y., van Kleunen, M. 2016. Does greater specific leaf area plasticity help plants to maintain a high performance when shaded?. *Annals of Botany*, 118(7), 1329-1336.

Long, S. P., & Bernacchi, C. J. 2003. Gas exchange measurements, what can they tell us about the underlying limitations to photosynthesis? Procedures and sources of error. *Journal of Experimental Botany*, 54(392), 2393-2401.

Martins, S. C. V., Detmann, K. C., Reis, J. V. D., Pereira, L. F., Sanglard, L. M. V. P., Rogalski, M., & DaMatta, F. M. 2013. Photosynthetic induction and activity of enzymes related to carbon metabolism: insights into the varying net photosynthesis rates of coffee sun and shade leaves. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*, 25(1), 62-69.

Mielke, M.S; De Almeida, A.-A.F; Gomes, F.P. 2005. Photosynthetic traits of five neotropical rainforest tree species: interactions between light response curves and leaf to air vapour pressure deficit. - *Braz. Arch. Biol. Technol.*48: 815-824.

Motamayor JC, Lachenaud P, da Silva e Mota JW, Loo R, Kuhn DN; Brown, J; Schenell, R. 2008. Geographic and Genetic Population Differentiation of the Amazonian Chocolate Tree (*Theobroma cacao* L). *Plos ONE* 3(10): e3311.

Pompelli, M. F., Martins, S. C., Antunes, W. C., Chaves, A. R., & DaMatta, F. M. 2010. Photosynthesis and photoprotection in coffee leaves is affected by nitrogen and light availabilities in winter conditions. *Journal of plant physiology*, 167(13), 1052-1060.

R Development Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>

Rada, F; Jaimez, R. E; Garcia- Nunez, C; Azocar, A; Ramirez, M. E. 2005. Water relations and gas Exchange in *Theobroma cacao* var. Guasare under periods of water deficits. *Revista de la Facultad de Agronomia (LUZ)* 22:105–112

Rodríguez-López, N. F., Cavatte, P. C., Silva, P. E., Martins, S. C., Morais, L. E., Medina, E. F., & DaMatta, F. M. 2013. Physiological and biochemical abilities of robusta coffee leaves for acclimation to cope with temporal changes in light availability. *Physiologia plantarum*, 149(1), 45-55.

Rosenqvist E, van Kooten O. 2003. Chlorophyll fluorescence: a general description and nomenclature. In: DeEll JR, Toivonen PMA (eds) Practical applications of chlorophyll fluorescence in plant biology. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 31–78.

Russo, S. E., Kitajima, K. 2016. The ecophysiology of leaf lifespan in tropical forests: adaptive and plastic responses to environmental heterogeneity. In Tropical Tree Physiology (pp. 357-383). Springer International Publishing.

Serrano, P; Biehl, B. 1996. Light stress on cacao (*Theobroma cacao* L.) fluorometric measurements under different light conditions in the field. In 12th International Cocoa Research Conference, Salvador, Bahia, Brazil, 17–23 November, 583–588.

Tezara, W. T., De Almeida, J. D. A., Valencia, E. V., Cortes, J. C., Bolaños, M. B. 2015. Actividad fotoquímica de clones élitos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Ecuatoriano en el norte de la provincia esmeralda. Investigación y Saberes, 4(3), 37-51.

Tezara, W., Urich, R., Jaimez, R., Coronel, I., Araque, O., Azocar, C., & Chacón, I. 2016. Does Criollo cocoa have the same ecophysiological characteristics than Forastero?. Botanical Sciences, 94(3), 563-574.

Violet-Chabrand, S., Matthews, J. S., Simkin, A. J., Raines, C. A., Lawson, T. 2017. Importance of fluctuations in light on plant photosynthetic acclimation. Plant Physiology, 173(4), 2163-2179.

Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender - Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H.C., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J., Villar, R. 2004. The worldwide leaf economics spectrum. Nature, 428(6985), 821 -827.

Zivcak, M., Brestic, M., Kalaji, H. M. 2014. Photosynthetic responses of sun-and shade-grown barley leaves to high light: is the lower PSII connectivity in shade leaves associated with protection against excess of light?. Photosynthesis research, 119(3), 339-354.

6. Capítulo 6. Análisis de relación entre el intercambio de gases y flujo de savia con las variables climáticas bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao mediante modelos de ecuaciones estructurales

6.1 Resumen

Los procesos fisiológicos como la fotosíntesis (A) y el flujo de savia (V_s) dependen de diferentes variables externas e internas, las cuales pueden estar correlacionadas. En este sentido, para explicar la relación entre el comportamiento fisiológico (A y V_s) y las variables ambientales se usan enfoques estadísticos innovadores como los modelos de ecuaciones estructurales (SEM) que permiten de manera simultánea determinar los efectos directos e indirectos de las variables ambientales sobre el comportamiento fisiológico de la planta. En este sentido, se diseñó un experimento para determinar las relaciones directas e indirectas de variables microclimáticas (humedad relativa del aire RH %, temperatura del aire T_{air} °C, radiación fotosintéticamente activa PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, déficit de presión de vapor VPD , kPa) con el comportamiento fisiológico (Tasa neta de fotosíntesis A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; Flujo de savia $L \text{ hr}^{-1}$, Concentración de CO_2 intracelular C_i $\mu\text{mol mol}^{-1}$, Concentración de CO_2 ambiental C_a $\mu\text{mol mol}^{-1}$, Conductancia estomática g $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Tasa de Transpiración E $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Eficiente Uso del Agua WUE

($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) bajo los diferentes arreglos agroforestales (i. *Alta densidad de musáceas* CP, ii. *Baja diversidad de árboles agregados* SAA, iii. *Multiestrato diversificado* SMD). En general, El SEM mostró un buen ajuste a los datos indicado por el valor no significativo χ^2 ($P = 0,85$), alto índice de ajuste comparativo ($\text{CFI} = 0.97$), bajo Error cuadrático medio de aproximación ($\text{RMSEA} < 0,001$) y bajo índice de estabilidad ($\text{EI} = 0,23$). La fotosíntesis (A) presentó correlación lineal con PAR , C_i y g_s para el modelo general y para los arreglos CP y SAA; mientras que PAR no presentó correlación lineal en el arreglo SMD. Para el flujo de savia, presentó correlación lineal con PAR y RH_a en el modelo general y bajo todos los arreglos agroforestales; mientras que T_a y VPD no presentó correlación lineal en los arreglos agroforestales *Multiestrato diversificado complejo* SMD y *baja diversidad de árboles agregados* SAA, respectivamente. En general, los resultados muestran efectos directos e indirectos de las variaciones microclimáticas en el funcionamiento fisiológico del cultivo de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales.

Palabras claves: Ecuaciones estructurales, Asimilación de carbono, flujo de savia, *Theobroma cacao*.

6.2 Abstract

Physiological processes such as photosynthesis (A) and sap flow (V_s) depend on different external and internal variables, which may be correlated. In this sense, to explain the relationship between physiological behavior (A and V_s) and environmental variables, innovative statistical approaches are used, such as structural equation models (SEM) that simultaneously allow determining the direct and indirect effects of environmental variables. about the physiological behavior of the plant. In this sense, an experiment was designed to determine the direct and indirect relationships of microclimatic variables (relative humidity of air $RH\%$, air temperature $T_{air} \text{ } ^\circ\text{C}$, photosynthetically active radiation PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, vapor pressure deficit VPD , kPa) with the physiological behavior (net rate of photosynthesis $A \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$; sap flow $L \text{ h}^{-1}$, intracellular CO_2 concentration $C_i \mu\text{mol mol}^{-1}$, environmental CO_2 concentration $C_a \text{ mol mol}^{-1}$, Stomatic conductance $g_s \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Transpiration rate $E \text{ mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, Efficient use of WUE water ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$) under the different agroforestry arrangements (I. High density of Musaceas CP , ii Low diversity of aggregate trees SAA, iii. Diversified multilayer SMD.) In general, SEM showed a good fit to the data indicated by the non-significant value χ^2 ($P = 0.85$), high index of comparative adjustment ($\text{CFI} = 0.97$), low

mean square error of approximation (RMSEA < 0,001) and low stability index (EI = 0.23). Photosynthesis (A) presented linear correlation with PAR, Ci and gs for the general model and for the CP and SAA arrangements; while PAR did not present linear correlation in the SMD, array. For the flow of sap, presented linear correlation with PAR and RHa in the general model and under all agroforestry arrangements; whereas Ta and VPD did not present linear correlation in the agroforestry arrangements Multiextract diversified complex SMD and low diversity of aggregate SAA trees, respectively. In general, the results show direct and indirect effects of the microclimatic variations in the physiological functioning of the cocoa crop under different agroforestry arrangements.

Keywords: Structural equations, Carbon assimilation, flow of sap, *Theobroma cacao*.

6.3 Introducción

Los procesos fisiológicos como la fotosíntesis y el flujo de savia de los cultivos dependen de diferentes variables externas e internas. Estas variables pueden estar correlacionadas entre sí, posiblemente causando una cadena de resultados que generan adaptaciones fisiológicas para lograr un óptimo desempeño. Los estudios ecofisiológicos indican que las plantas regulan el proceso de fotosíntesis y el flujo de savia mediante el ajuste de la conductancia estomática en respuesta a los cambios en las variables ambientales (Li et al. 2016; Zhao et al. 2016; Liu et al. 2011).

Para el cultivo del cacao (*Theobroma cacao* L.) se han realizado estudios, explicando de manera independiente, la relación de variables ambientales con procesos fisiológicos como, por ejemplo, la incidencia sobre la fotosíntesis de la disponibilidad de agua (Almeida et al. 2016; Apshara et al. 2016; Ayegboyin et al. 2016; Garcia y Moren, 2016; Araque et al. 2012; Carr et al. 2011; Daymond et al. 2011; Rada et al. 2005; Balasimha et al. 1999; Ismail et al. 1992), la temperatura (Daymond y Hadley, 2008, 2004), la radiación interceptada (Acheampong et al. 2013; Baligar et al. 2008; Galyuon et al. 1996ab, Raja Harun y Hardwick, 1988ab), el déficit de presión de vapor (Baligar et al. 2008), la concentración de pigmentos fotosintéticos (Ofori et al. 2015; Balasimha et al. 2011) y otras condiciones ambientales (Ávila-Lovera et al. 2016; Balasimha et al. 1991). Así mismo, se ha estudiado el efecto de las condiciones ambientales sobre el flujo de savia, bajo diferentes arreglos agroforestales (Köhler et al. 2014, 2010, 2009). Pero no se han evaluado de manera simultánea parámetros climáticos con fisiológicos

para determinar relaciones directas e indirectas que lleven a una aproximación sobre el desempeño de la planta.

Para explorar las múltiples relaciones causales entre las variables ambientales y fisiológicas, y determinar los efectos directos e indirectos se han utilizado los modelos de ecuaciones estructurales (SEM). Estos modelos permiten contrastar escenarios que describen relaciones (lineales) entre variables que pueden actuar como variables de respuesta y/o como predictoras (Shao et al. 2016). Varios autores han evaluado SEM para examinar las relaciones causales entre variables ambientales y fisiológicas para explicar el proceso de la fotosíntesis (Reichmann et al. 2016; Shao et al. 2016; Zhang et al. 2014; Daas-Ghrib et al. 2011; Campbell et al. 2010; Montpied et al. 2009; Shipley et al. 2005) y el flujo de savia (Guangcheng et al. 2016; Li et al. 2016; Deng et al. 2015; O'Brien et al. 2004). Los modelos SEM traducen una serie de relaciones causa-efecto entre diferentes variables. La comparación de modelos permite contrastar hipótesis sobre relaciones complejas entre variables (Helman et al. 2017; Shipley, 1999). El objetivo de este trabajo fue determinar las relaciones directas e indirectas de variables microclimáticas sobre la fotosíntesis y el flujo de savia bajo diferentes arreglos agroforestales de cacao.

6.4 Materiales y Métodos

6.4.1 Sitio de estudio y arreglos agroforestales

Las mediciones se realizaron en plantas de cacao bajo diferentes arreglos agroforestales en el Centro de Investigaciones Macagual - Universidad de la Amazonía-Colombia (1°37'N y 75°36'W). El clima es de tipo cálido-húmedo, característico del ecosistema de bosque húmedo tropical, con precipitación anual promedio de 3800 mm, brillo solar de 1700 horas año⁻¹, temperatura promedio de 25.5°C y humedad relativa del aire del 84%. Las plantas de cacao fueron plantadas en octubre del 2012, distancia de siembra 3×3 m, en tres parcelas o arreglos agroforestales de 25×50 m con 138 plantas de cacao por parcela.

6.4.2 Caracterización de arreglos agroforestales

Los arreglos agroforestales estaban conformados con plantas de cacao y se diferenciaban entre sí en la densidad y tipo de especies acompañantes, que conforman un dosel superior que generan distintos niveles de sombrero al cacao. Para medir la cantidad de fotones ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) que se transmiten por el dosel de los árboles

superiores dependiendo de la densidad y del tipo de especies arbóreas asociadas al dosel de sombra se utilizó un sensor AcuPAR LP-80 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA). Los arreglos en los cuales se evaluó las relaciones directas e indirectas de variables microclimáticas sobre la fotosíntesis y el flujo de savia fueron: i. *Alta densidad de musáceas* (CP) con sombra temporal generada por la asociación con plátano (*Musa paradisiaca*, Musa AAB), a una densidad de 127 plantas ha⁻¹, y radiación transmitida de 95%; ii. *Baja diversidad de árboles agregados* (SAA) con sombra media generada por el agrupamiento de árboles de copa poco densa (*Cariniana pyriformis*, *Calycophyllum spruceanum*), radiación transmitida promedio de 61% a una densidad de 35 árboles ha⁻¹; iii. *Multiestrato diversificado* (SMD) con sombra intensa y radiación transmitida del 28% con una densidad de 55 árboles por ha⁻¹. Los factores macro-ambientales (clima general y suelo) fueron iguales para todas las parcelas. El registro del comportamiento fisiológico se realizó sobre cuatro plantas de cacao escogidas aleatoriamente en cada arreglo. Por la naturaleza clonal y coetánea de las plantas se asume que las diferencias encontradas a nivel fisiológico entre arreglos se deben al efecto de los arreglos sobre las variables microambientales bajo el dosel y al efecto de estas últimas sobre el comportamiento fisiológico del cacao, no estando confundidos con otros factores.

6.4.3 Variables microclimáticas

Bajo el dosel de cada arreglo agroforestal se ubicó una estación meteorológica marca WatchDog 2900ET (Spectrum Technologies, Inc., USA) con la que se monitoreó con una frecuencia de minuto la humedad relativa del aire (RH_a %), la temperatura del aire (T_a , °C), y la radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Se calculó el deficit presión de vapor (VPD , kPa) a partir de la temperatura del aire y de la humedad relativa registrada minuto a minuto siguiendo la metodología propuesta por Allen et al. (2006).

6.4.4 Variables fisiológicas

Usando el analizador de gases infrarrojo CIRAS-3 Portable Photosynthesis System (PP Systems Inc., Amesbury, MA, USA) se determinó la tasa neta de fotosíntesis (A) en cuatro plantas de cacao, en cuatro hojas sanas, completamente extendidas, maduras y expuestas, del dosel externo, del tercio medio de la planta. Las condiciones ambientales en la cámara de la hoja consistieron en un VPD entre un rango de 0.1 a 0.2 kPa y temperatura de la hoja de 25°C. Las mediciones fueron realizadas entre las 08:00 y 13:00 horas a temperatura de 25°C, 400 ppm de presión parcial de

CO₂ y bajo radiación artificial proporcionada por la fuente de luz LED de la cubeta a nivel de hoja (PP Systems Inc., Amesbury, MA, USA) correspondientes al nivel de saturación en hojas externas del dosel, referidas como aquellas que en el árbol durante todo el día siempre le llega luz solar. Las variables recopiladas bajo cada arreglo agroforestal fueron A = Tasa neta de fotosíntesis ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); C_i = Concentración CO₂ intracelular ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), C_a = Concentración CO₂ ambiental ($\mu\text{mol mol}^{-1}$), g_s = Conductancia estomatica ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), E = Tasa de Transpiración ($\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), WUE = Eficiente Uso del Agua.

El flujo de savia se cuantificó en cuatro plantas de cacao, las mismas utilizadas para determinar el intercambio de gases, bajo cada arreglo agroforestal con sensores tipo SFM1 (ICT International, Armidale, Australia) instalados en el tronco principal y a una altura de 20 cm del suelo. Estos sensores se basan en el método de relación de calor (Heat Ratio Method, HRM). El HRM fue desarrollado y presentado teóricamente por Burgess et al. (2001) y validado por Bleby et al. (2004). Estos sensores han sido ampliamente utilizados como herramienta para medir el uso del agua por los árboles (Fernández et al. 2016; Looker et al. 2016), permitiendo cuantificar la velocidad del flujo de savia con base en curvas de temperatura a partir de un impulso de calor (densidad y difusión térmica). Además de las características propias de cada especie, las condiciones microclimáticas (Hernández-Santana et al. 2016; Rousseaux et al. 2009; Lin, 2010) inciden en el incremento o variabilidad del flujo de savia; por ejemplo, se ha reportado que variables como la hora del día, el déficit de presión de vapor (Ford et al. 2004) y el nivel de radiación (Fiora y Cescatti, 2006) pueden afectar al flujo de savia de los cultivos arbóreos.

Los sensores SMF1 estuvieron asociados a un sistema de recolección de datos (CR10X datalogger + multiplexor AM416, Campbell Scientific, Logan, UT, USA) que almacenó una medida cada 10 minutos. Cada sensor SFM1 está compuesto por dos agujas y una sonda de calor integrada a un microprocesador para determinar el V_s. Cada aguja está compuesta por dos termocuplas las cuales reciben el pulso de calor que incrementa la temperatura en el xilema conductor y que es proporcional a la velocidad del pulso de calor (V_s, cm h⁻¹) (Burgess et al. 2001, 1998).

La V_s se calculó según la siguiente expresión:

$$V_s = \frac{k}{x} \ln(V_1 / V_2) * 3600$$

dónde: k es la difusividad térmica en el área del xilema conductor (se asumió un valor por defecto de $0.0025 \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$), x es la distancia entre la sonda de calor y cada una de las agujas (cm), V es la aumento de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$) inicial con respecto a la aguja ubicada en la parte inferior (V_1) y superior (V_2).

6.4.5 Análisis estadístico

El modelo de ecuaciones estructurales (SEM) es un método estadístico que permite la prueba de hipótesis de redes complejas de relaciones lineales (Shipley, 2016). Se ha utilizado para explicar procesos ecofisiológicos separando los efectos directos e indirectos entre las variables microclimáticas y fisiológicas. El modelo evaluado examinó las diferentes relaciones causales de acuerdo con estudios previos entre variables climáticas y fisiológicas (intercambio gaseoso) (Reichmann et al. 2016; Shao et al. 2016; Zhang et al. 2014; Daas-Ghrib et al. 2011; Campbell et al. 2010; Montpied et al. 2009; Shipley et al. 2005) o flujo de savia (Guangcheng et al. 2016; Li et al. 2016; Deng et al. 2015; O'Brien et al. 2004). Se ajustaron distintas variantes de los modelos provistos por la bibliografía tanto para los datos sin diferenciar por arreglos agroforestales (modelo general) así como para cada uno de los arreglos agroforestales (alta densidad de musáceas CP, baja diversidad de árboles agregados SAA, multiestrato diversificado complejo SMD), basados en las relaciones de las variables fisiológicas y ambientales (Bellacio et al. 2016; Guangcheng et al. 2016; Li et al. 2016; Yamori, 2016; Kaiser et al. 2015). Para la selección de los modelos se utilizaron criterios fisiológicos y el criterio bayesiano de información. Los modelos fueron ajustados con la función `cfa` del paquete `sem` (Fox et al. 2017) del lenguaje R versión 3.4.0 (R Development Core Team, 2017). La visualización de los modelos ajustados se realizó utilizando la función `semPaths` del paquete `semPlot` (Epskamp, 2017). R fue utilizado mediante la interfaz del software estadístico InfoStat (Di Rienzo et al., 2017).

6.5 Resultados

Las ecuaciones seleccionadas para describir las relaciones de las variables microclimáticas con las fisiológicas (intercambio gaseoso y flujo de savia) fueron ajustadas sin distinguir entre arreglos agroforestales (modelo general) así como para cada uno de los tres arreglos evaluados las cuales se muestran en la Tabla 6-1 y Tabla 6-2, respectivamente. El análisis SEM mostró un buen ajuste a los datos indicado por el

valor no significativo χ^2 ($P = 0,85$), alto CFI ($= 0.97$), bajo RMSEA ($<0,001$) y bajo índice de estabilidad ($= 0,23$).

Tabla 6-1 Representación simbólica de ecuaciones estructurales seleccionadas para modelar la relación entre variables de intercambio gaseoso y microclima.

Ca	~ Ta
Ci	~ Ca
A	~ PAR + Ci + gs
Ta	~ PAR + RH
VPD	~ Ta + RH
Ci	~ gs
gs	~ PAR + VPD
WUE	~ Ci + E + gs
E	~ VPD + gs

Tabla 6-2 Representación simbólica de ecuaciones estructurales seleccionadas para modelar la relación entre el flujo de savia y el microclima.

VDP	~ Ta + RH
RH	~ PAR + Ta
Ta	~ PAR
Vs	~ PAR + VDP

Relacionado con Fotosíntesis

Los efectos directos e indirectos entre variables microclimáticas e intercambio gaseoso, inferidos de los Modelos de Ecuaciones Estructurales, se muestran en la Figura 6-1.

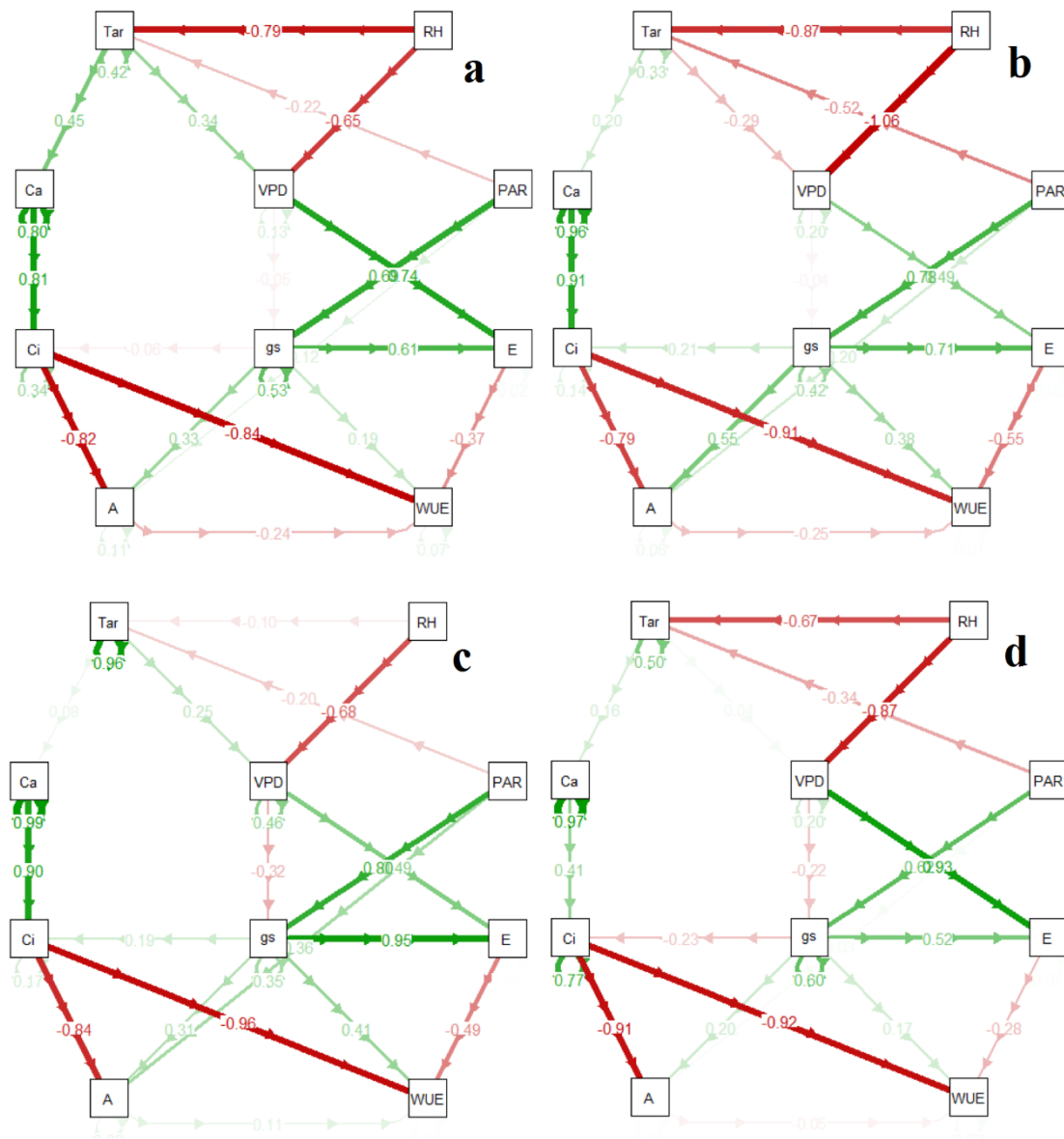


Figura 6-1 Efectos directos e indirectos entre las variables climáticas e intercambio gaseoso bajo arreglos agroforestales. a. Modelo general, b. CP: Alta densidad de musáceas, c. SAA: baja diversidad de árboles agregados, d. SMD: Multiestrato diversificado complejo. Humedad relativa del aire (RH %), temperatura del aire (T_{air} °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa), Tasa neta de fotosíntesis (A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Concentración CO_2 intracelular (C_i $\mu\text{mol mol}^{-1}$), Concentración CO_2 ambiental (C_a $\mu\text{mol mol}^{-1}$), Conductancia estomática (gs $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Tasa de Transpiración (E $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Eficiente Uso del Agua (WUE).

Relacionado con el flujo de savia

Los efectos directos e indirectos entre variables microclimáticas y flujo de savia, inferidos de los Modelos de Ecuaciones Estructurales, se muestran en la Figura 6-2.

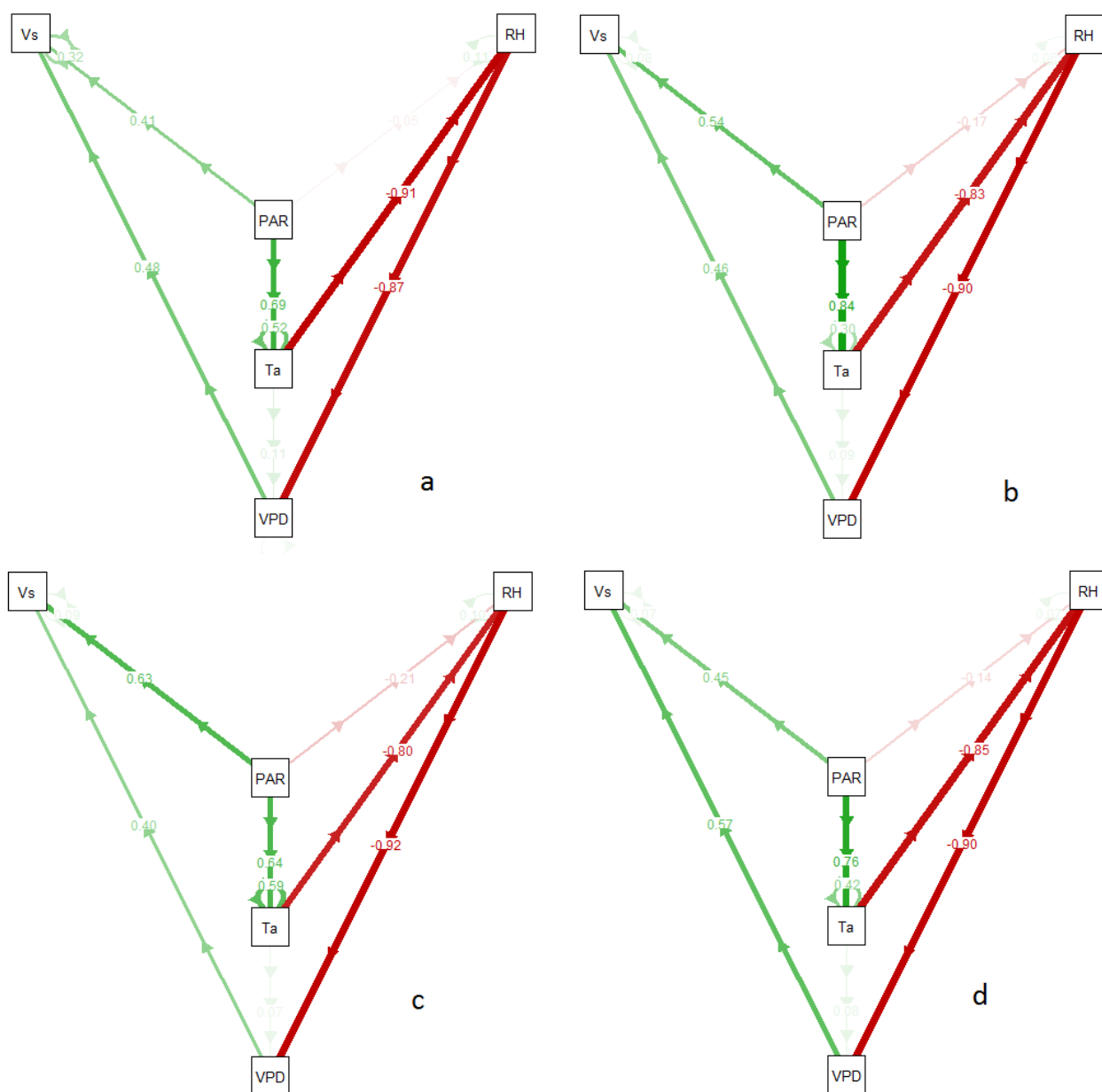


Figura 6-2 Efectos directos e indirectos entre las variables climáticas y Vs, bajo los arreglos agroforestales. a. Modelo general, b. Alta densidad de musáceas CP, c. baja diversidad de árboles agregados SAA, d. Multiestrato diversificado complejo SMD. Humedad relativa del aire (RH %), temperatura del aire (T_{air} °C), radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa), Flujo de Savia (Vs L hr^{-1}).

En la tabla 6-3 se muestra la relaciones lineales de cada una de las ecuaciones estructurales seleccionadas para modelar la relación entre variables de intercambio gaseoso y flujo de savia con variables ambientales presentadas en la tabla 6-1 y 6-2. La

fotosíntesis (A) presentó correlación lineal entre PAR , C_i y g_s para el modelo general y para los arreglos *alta densidad de musáceas* y *baja diversidad de árboles agregados*, mientras PAR no presentó una correlación lineal en el arreglo *alta densidad de musáceas* (Tabla 6-3). En el caso del WUE presentó correlación lineal con todas las variables regresoras C_i , E y g_s . Para E , presentó correlación lineal con VPD y g_s ; tanto en el modelo general como bajo todos los arreglos agroforestales (Tabla 6-3). g_s presentó correlación lineal entre PAR en todos los modelos, mientras entre g_s y VPD no presentó correlación en el modelo general y bajo el arreglo *alta densidad de musáceas*. Para T_a presentó correlación lineal con PAR en todos los modelos, mientras con T_a y RH_a no presentó correlación en el arreglo *baja diversidad de árboles agregados*. VPD no presentó correlación lineal en el arreglo *baja diversidad de árboles agregados* con T_a , mientras RH_a y VPD presentó correlación lineal en todos los modelos (Tabla 6-3). C_i y g_s no presentaron correlación lineal en el modelo general y bajo el arreglo *multiestrato diversificado complejo*, para C_a y T_a en los arreglos *baja diversidad de árboles agregados* y *multiestrato diversificado complejo*. Como es de esperarse se encontró una correlación lineal en C_i y C_a en todos los modelos realizados (Tabla 6-3).

Para el flujo de savia, V_s presentó correlación lineal con PAR y RH_a en el modelo general y bajo todos los arreglos agroforestales, mientras que T_a y VPD no presentó correlación lineal en los arreglos agroforestales *Multiestrato diversificado complejo* y *baja diversidad de árboles agregados*, respectivamente (Tabla 6-3). VPD presentó correlación lineal con todas las variables regresoras T_a y RH_a . T_a presentó correlación lineal con RH_a en todos los modelos, mientras T_a y PAR no presentó correlación en *alta densidad de musáceas* y *multiestrato diversificado complejo*. RH_a presentó correlación lineal entre PAR en todos los modelos (Tabla 6-3).

Tabla 6-3 Parámetros estimados a partir de modelos de ecuaciones estructurales entre cada una de las variables ambientales en relación a fotosíntesis A y flujo de savia V_s , en árboles de cacao, bajo diferentes arreglos agroforestales. a. Modelo general, b. Alta densidad de musáceas CP, c. baja diversidad de árboles agregados SAA, d. Multiestrato diversificado complejo SMD. Humedad relativa del aire (RH %), temperatura del aire (T_{air} °C), la radiación fotosintéticamente activa (PAR , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), déficit de presión de vapor (VPD , kPa), Tasa neta de fotosíntesis (A $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$); Concentración CO_2 intracelular (C_i $\mu\text{mol mol}^{-1}$), Concentración CO_2 ambiental (C_a $\mu\text{mol mol}^{-1}$), Conductancia estomática (g_s $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Tasa de Transpiración (E $\text{mmol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), Eficiente Uso del Agua (WUE $\mu\text{mol CO}_2 / \text{mmol}^{-1} \text{H}_2\text{O}$), Flujo de Savia (V_s L hr^{-1}).

Regresión		General			CP			SAA			SMD		
		r	E.E	p.value	r	E.E	p.value	r	E.E	p.value	r	E.E	p.value
Intercambio de gases													
A~	PAR	0.101 ± 0.021	<0.001	0.155 ± 0.027	<0.001	0.292 ± 0.029	<0.001	0.032 ± 0.018	<u>0.077</u>				
	Ci	-0.708 ± 0.016	<0.001	-0.501 ± 0.015	<0.001	-0.615 ± 0.018	<0.001	-0.892 ± 0.015	<0.001				
	gs	0.273 ± 0.021	<0.001	0.422 ± 0.027	<0.001	0.207 ± 0.024	<0.001	0.183 ± 0.017	<0.001				
WUE~	Ci	-0.947 ± 0.018	<0.001	-1.138 ± 0.014	<0.001	-1.123 ± 0.010	<0.001	-1.064 ± 0.028	<0.001				
	E	-0.443 ± 0.024	<0.001	-0.896 ± 0.036	<0.001	-0.689 ± 0.024	<0.001	-0.348 ± 0.031	<0.001				
	gs	0.208 ± 0.022	<0.001	0.576 ± 0.033	<0.001	0.442 ± 0.019	<0.001	0.186 ± 0.028	<0.001				
E~	VPD	0.685 ± 0.008	<0.001	0.460 ± 0.011	<0.001	0.452 ± 0.007	<0.001	0.847 ± 0.013	<0.001				
	gs	0.555 ± 0.008	<0.001	0.658 ± 0.011	<0.001	0.726 ± 0.006	<0.001	0.446 ± 0.013	<0.001				
gs~	PAR	0.699 ± 0.042	<0.001	0.789 ± 0.068	<0.001	0.968 ± 0.061	<0.001	0.655 ± 0.116	<0.001				
	VPD	-0.048 ± 0.042	<u>0.252</u>	-0.042 ± 0.068	<u>0.534</u>	-0.383 ± 0.061	<0.001	-0.237 ± 0.116	0.040				
Ta~	PAR	-0.216 ± 0.038	<0.001	-0.515 ± 0.058	<0.001	-0.199 ± 0.086	0.021	-0.335 ± 0.100	0.001				

	RH	-0.788 ± 0.038	<0.001	-0.873 ± 0.058	<0.001	-0.103 ± 0.086	<u>0.234</u>	-0.673 ± 0.100	<0.001
VPD~	Ta	0.342 ± 0.030	<0.001	-0.291 ± 0.055	<0.001	0.254 ± 0.056	<0.001	0.039 ± 0.080	<u>0.620</u>
	RH	-0.654 ± 0.030	<0.001	-1.063 ± 0.055	<0.001	-0.679 ± 0.056	<0.001	-0.870 ± 0.080	<0.001
Ci~	gs	-0.059 ± 0.032	<u>0.064</u>	0.251 ± 0.041	<0.001	0.174 ± 0.031	<0.001	-0.212 ± 0.114	<u>0.063</u>
Ca~	Ta	0.450 ± 0.050	<0.001	0.197 ± 0.090	0.029	0.076 ± 0.083	<u>0.360</u>	0.163 ± 0.138	<u>0.238</u>
Ci~	Ca	0.784 ± 0.032	<0.001	1.103 ± 0.041	<0.001	0.991 ± 0.037	<0.001	0.398 ± 0.121	0.001
Flujo de savia									
V _s ~	PAR	0.412 ± 0.012	<0.001	0.539 ± 0.015	<0.001	0.632 ± 0.012	<0.001	0.455 ± 0.012	<0.001
	VPD	0.481 ± 0.012	<0.001	0.457 ± 0.015	<0.001	0.401 ± 0.012	<0.001	0.571 ± 0.012	<0.001
VPD~	Ta	0.113 ± 0.010	<0.001	0.086 ± 0.022	<0.001	0.072 ± 0.014	<0.001	0.084 ± 0.019	<0.001
	RH	-0.873 ± 0.010	<0.001	-0.897 ± 0.022	<0.001	-0.915 ± 0.014	<0.001	-0.902 ± 0.019	<0.001
RH~	PAR	-0.053 ± 0.007	<0.001	-0.166 ± 0.012	<0.001	-0.213 ± 0.012	<0.001	-0.144 ± 0.011	<0.001
	Ta	-0.906 ± 0.007	<0.001	-0.828 ± 0.012	<0.001	-0.797 ± 0.012	<0.001	-0.851 ± 0.011	<0.001
Ta~	PAR	0.693 ± 0.012	<0.001	0.838 ± 0.015	<0.001	0.642 ± 0.021	<0.001	0.764 ± 0.018	<0.001

6.6 Discusión

6.6.1 Efectos directos e indirectos entre variables climáticas y el intercambio gaseoso bajo los arreglos agroforestales

Las variaciones microclimáticas entre los diferentes arreglos agroforestales de cacao pueden conducir a efectos directos e indirectos en el funcionamiento fisiológico de la planta y del cultivo (Apshara et al. 2016; Ávila-Lovera et al. 2016; De Almeida et al. 2016). En todos los modelos analizados A (Figura 6-1a, b, c, d) presentó relaciones directas con PAR e indirectas con las demás variables microclimáticas, resultado de las estructuras agroforestales (Tabla 6-3).

En los resultados obtenidos a partir de los modelos de ecuaciones estructurales, en el modelo general (Figura 6-1a) y bajo los arreglos *Alta densidad de musáceas y baja diversidad de árboles agregados* (Figura 6-1b,c), la fotosíntesis en las plantas de cacao correlacionó positivamente con PAR , contrario a lo encontrado para el arreglo *multiestrato diversificado* donde la PAR no se correlacionó con A (Figura 6-1d) debido a la poca radiación transmitida que le llega a las plantas de cacao. En condiciones de muy bajos niveles de radiación, los fotosistemas a menudo no pueden completar la activación incidiendo en el proceso fotoquímico de generación de ATP y NADPH para la fijación de CO_2 , además de disminuir los valores de A (de Araújo et al. 2017; Kaiser et al., 2016).

El valor obtenido para A bajo diferentes niveles PAR , cuando se analiza a punto de saturación, este se encuentra entre de 200 a 750 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, rango que ha sido reportado por diferentes autores (Ávila-Lovera et al. 2016; Almeida et al. 2016, 2014; García, 2014; Acheampong et al. 2013; Araque et al. 2012; Daymond et al. 2011; Baligar et al. 2008; Almeida y Valle, 2007; Rada et al. 2005; DaMatta et al. 2001; Miyaji et al. 1997; Balasimha et al. 1991; Raja Harun and Hardwick, 1988a, Hutcheon, 1976).

Las plantas de cacao bajo el arreglo CP a las que les llega 95% de radiación solar ($1400 \mu\text{moles m}^{-2}\text{s}^{-1}$) no presentaron fotoinhibición, es decir, no presentó este tipo de estrés (Acheampong et al., 2013; Baligar et al. 2008; Galyuon et al., 1996a, b; Serrano y Biehl, 1996), lo cual es acorde con la correlación positiva entre PAR y A ; contrario a lo encontrado en el arreglo donde la sombra fue mayor (multiestrato diversificado complejo Tabla 6-1, Figura 6-1d). Además de la condición anterior, la zona donde se desarrolló el

estudio presentó alta nubosidad que reduce la cantidad de energía lumínica que puede ser interceptada por el cultivo afectando A .

En el modelo general y para cada uno de los arreglos agroforestales, al analizar las pérdidas de agua por transpiración (E) se presentó una relación directa con VPD y g_s la cual reportan algunos autores, pueden causar cierre estomático (Ávila-Lovera et al. 2016, Araque et al. 2012) y disminución de la absorción de CO_2 (C_i) (Ayegboyin et al. 2016). En este sentido, al incrementar los valores de PAR , se afecta el VPD y ésta afecta a la g_s , por lo cual se sugiere la presencia de algunas limitaciones estomáticas (Ayegboyin et al. 2016), en paralelo con una reducción en A (Kreuzwieser and Renhenberg, 2014; Balasimha et al. 1991 Tabla 6-1).

El C_a se correlacionó de manera positiva con C_i , por tanto la A depende de manera lineal de esta última, similar a lo reportado por Balasimha et al. (1991). En este sentido, a la falta de sustrato (C_i) se encontró correlación negativa con el WUE , situación que ha sido reportada por Baligar et al. (2008) y se presentó en el modelo general, en *alta densidad de musáceas, baja diversidad de árboles agregados y multiestrato diversificado complejo* (Figura 6-1a, b, c, d). En el modelo general (Figura 6-1a), la concentración de carbono ambiental (C_a) está afectado por condiciones ambientales tal como lo demuestra Xu et al. (2016), específicamente se encontró una correlación con T_a , la cual se relaciona directamente con C_i y A . El cacao por ser una planta C_3 presenta mayor tasa fotosintética al incrementar el carbono atmosférico, situación que ha sido demostrada por otros estudios (Norby et al. 2016; Schmid et al. 2016) y en otras especies como el café (DaMatta et al. 2016; Martins et al. 2016).

La asimilación de carbono (A) en las plantas de cacao es susceptible a las variaciones de T_a y RH_a que influyen el VPD (Daymond et al. 2011; Baligar et al. 2008; Daymond y Hadley, 2004; Balasimha et al. 1991; Raja Harun y Hardwick, 1988a, 1988b) situación que afecta la g_s . Por ello, g_s es mediada por factores ambientales ya sea solos y/o en combinación (Xu et al. 2016) (PAR , T_a , RH_a , VPD Šigut et al. 2015; Pérez-Martin et al. 2009) teniendo correlación positiva con A (Raja Harun y Hardwick 1988b, Sena et al. 1987).

Al analizar la relación de T_a y RH_a con el VPD , se encontró que bajo todos los arreglos agroforestales este último tuvo la mayor incidencia (Figura 6-1a, b, c, d). Usualmente cuando se habla de la influencia del VPD , es porque o la RH_a es muy baja o

la T_a es alta y eso hace que se afecte la tasa de transpiración y por consiguiente puede llevar a cierre estomático, situación que puede ser causada por el incremento de PAR .

En el presente estudio se encontró que al incrementar el VPD , se encontró una correlación negativa con g_s , por consiguiente con A . Lo anterior ha sido reportado también, para otros cultivos, en ambientes con diferentes niveles de radiación (Chen et al. 2016; Guo et al. 2016; Puglielli et al. 2016; Catoni et al. 2015). Igualmente se han reportado estudios donde el cultivo del cacao ha tenido adaptaciones fisiológicas como ajustes osmóticos que incrementan el uso eficiente del agua, específicamente cuando es cultivado bajo arreglos agroforestales (Araque et al. 2012; Rada et al. 2005), situación similar a la encontrada en el presente trabajo.

6.6.2 Efectos directos e indirectos del V_s entre variables climáticas bajo los arreglos agroforestales

Estudios previos han demostrado el efecto de las variables ambientales (PAR , T_a , RH_a , VPD) sobre el V_s (Jiang et al. 2016; Zhao et al. 2016) y ha sido ampliamente utilizado para estudiar la respuesta de los cultivos a diferentes condiciones de estrés (Guangcheng et al. 2016; Juhász et al. 2013) y específicamente se ha demostrado la respuesta que tiene el cultivo del cacao (Köhler et al. 2014, 2010, 2009).

En el presente estudio se encontró que la V_s fue afectada de manera directa por la PAR con incrementos lineales, llegando a presentar un nivel máximo en el arreglo agroforestal de alta densidad de musáceas CP, con valores de 0.41 L hr^{-1} cuando la PAR es de $2000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, contrario a lo presentado en el arreglo SMD donde el nivel máximo se presentó bajo radiación de $250 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ con un flujo de savia de 0.12 L hr^{-1} ; este comportamiento se debe al ajuste hídrico ante variaciones ambientales generadas por la PAR , u otros factores como el VPD , así como también ante la disponibilidad de agua en el suelo que pueden incidir en el desempeño de la planta para el intercambio de gases, la apertura y cierre de estomas (g_s), y por consiguiente la velocidad de flujo de savia la cual se reduce con la disminución del contenido de agua del suelo, situación particular presentada en los arreglos de baja diversidad de árboles agregados SAA y multiestrato diversificado complejo SMD, y a las diferenciales que se presentan entre los potenciales hídricos suelo-planta-atmósfera (Balasimha, 2016; Guangcheng et al. 2016; Köhler et al. 2014, 2010).

Finalmente, la VPD fue afectada de manera significativa por la RH_a ($r=-0.87$), siendo ésta variable de mayor incidencia en comparación con T_a ($r=0.11$ Figura 6-2, Tabla 6-1) en todos los modelos de ecuaciones estructurales SEM. En este sentido el V_s fue afectada al

igual que por PAR por la VPD , siendo esta última regulada por la RH_a y la T_a . El VPD al llegar a valores cercanos de -1.0 kPa puede generar cierre estomático gradual afectando la transpiración y por tanto el V_s con valores entre $1.94 - 4.10$ kPa (Balasimha, 2016).

6.7 Agradecimientos

Este trabajo fue desarrollado con la colaboración financiera de COLCIENCIAS mediante fondos BID en el marco del proyecto “Caracterización y tipificación de plantaciones tradicionales de *Theobroma cacao* L. como estrategia de diseño e implementación de arreglos agroforestales en el Bajo Caguán (Cartagena del Chaira)”, ejecutado por la Universidad de la Amazonía mediante contrato de especial de cooperación 590 de 2012 y mediante fondos de Formación Doctoral de la Universidad de la Amazonia por medio de la estampilla “Prodesarrollo de la Universidad de la Amazonia” Ley No 1301 del 2009.

6.8 Referencias bibliográficas

- Acheampong, K; Hadley, P; Daymond, A. J. 2013. Photosynthetic activity and early growth of four Cacao genotypes as influenced by different shade regimes under West African dry and wet season conditions. *Experimental Agriculture* 49(1):31-42.
- Allen, R. G., Pereira, L. S., Raes, D., Smith, M., 2006. Evapotranspiración del cultivo: Guías para determinación los requerimientos de agua de los cultivos. Roma: FAO. Estudio Riego e Drenaje 56. 298 pp.
- Almeida, A. A. F., Valle, R.R., 2007. Ecophysiology of the cacao tree. *Braz. J. Plant Physiol.* 19,425–448.
- Almeida, A. F; Gomes, F.P; Araujo, R.P; Santos R.C; Valle, R.R. 2014. Leaf gas exchange in species of the *Theobroma* genus. *Photosynthetica* 52 (1): 16-21, 2014.
- Almeida, J., Tezara, W; Herrera, A. 2016. Physiological responses to drought and experimental water deficit and waterlogging of four clones of cacao (*Theobroma cacao* L.) selected for cultivation in Venezuela. *Agricultural Water Management*, 171, 80-88.
- Apshara, S. E., Hebbar, K. B., Mathias, T. G., & Séverin, A. 2016. Morpho-physiological criteria for assessment of two month old cocoa (*Theobroma cacao* L.) genotypes for drought tolerance. *Indian Journal of Plant Physiology*,21(1), 23-30.
- Araque, O., Jaimez, R. E., Tezara, W., Coronel, I., Urich, R., & Espinoza, W. 2012. Comparative photosynthesis, water relations, growth and survival rates in juvenile Criollo cacao cultivars (*Theobroma cacao*) during dry and wet seasons. *Experimental agriculture*, 48(04), 513-522.
- Ávila-Lovera, E., Coronel, I., Jaimez, R., Urich, R., Pereyra, G., Araque, O., & Tezara, W. 2016. Ecophysiological traits of adult trees of Criollo cocoa cultivars (*Theobroma cacao* L.) from a germplasm bank in Venezuela. *Experimental Agriculture*, 52(01), 137-153.
- Ayegboyin, K. O., & Akinrinde, E. A. 2016. Effect of Water Deficit Imposed during the Early Developmental Phase on Photosynthesis of Cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Agricultural Sciences*, 7(01), 11.

Balasimha, D; Daniel, E. V; Prakash, B. 1991. Influence of environmental factor on photosynthesis in cacao tree. *Agricultural and Forest Meteorology* 55:15–21.

Balasimha, D., Anil Kumar, V., Viraktamath, B.C. and Ananda, K.S. 1999. Leaf water potential and stomatal resistance in cocoa hybrids and parents. *Plantations Recherche Developpement* 6: 116-120.

Balasimha, D., Nayak, M. G., Jeeva, S., Reddy, N., & Jose, C. T. 2011. Chlorophyll fluorescence, stomatal conductance and yield of cashew germplasm from three agro-climatic regions of South India. *Journal of Plantation Crops (India)*.

Balasimha, D. 2016. Cocoa and Cashew. In: Rao N., Shivashankara K., Laxman R. (eds) *Abiotic Stress Physiology of Horticultural Crops*. Springer, New Delhi. 307-319 pp.

Baligar, V. C., Bunce, J. A., Machado, R. C. R., & Elson, M. K. 2008. Photosynthetic photon flux density, carbon dioxide concentration, and vapor pressure deficit effects on photosynthesis in cacao seedlings. *Photosynthetica*, 46(2), 216-221.

Bellasio, C., Beerling, D. J., & Griffiths, H. 2016. Deriving C4 photosynthetic parameters from combined gas exchange and chlorophyll fluorescence using an Excel tool: theory and practice. *Plant, cell & environment*.

Bleby, T.M., Burgess, S.S.O., Adams, M.A., 2004. A validation, comparison and error analysis of two heat-pulse methods for measuring sap flow in *Eucalyptus marginata* saplings. *Functional Plant Biology* 31, 645–658. <http://dx.doi.org/10.1071/FP04013>.

Burgess, S.S.O., Adams, M.A., Turner, N.C., Beverly, C.R., Ong, C.K., Khan, A.A.H., Bleby, T.M., 2001. An improved heat pulse method to measure low and reverse rates of sap flow in woody plants. *Tree Physiology* 21, 589–598. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/21.9.589>.

Burgess, S.S.O., Adams, M.A., Turner, N.C., Ong, C.K., 1998. The redistribution soil water by tree root systems. *Oecologia* 115,306–311. <http://dx.doi.org/10.1007/s004420050521>.

Campbell, D. R., Wu, C. A., & Travers, S. E. 2010. Photosynthetic and growth responses of reciprocal hybrids to variation in water and nitrogen availability. *American Journal of Botany*, 97(6), 925-933.

- Carr, M. K. V., & Lockwood, G. 2011. The water relations and irrigation requirements of cocoa (*Theobroma cacao* L.): a review. *Experimental Agriculture*, 47(04), 653-676.
- Catoni, R., Granata, M. U., Sartori, F., Varone, L., & Gratani, L. 2015. *Corylus avellana* responsiveness to light variations: morphological, anatomical, and physiological leaf trait plasticity. *Photosynthetica*, 53(1), 35-46.
- Chen, B. L., Yang, H. K., Ma, Y. N., Liu, J. R., Lv, F. J., Chen, J., ... & Zhou, Z. G. 2016. Effect of shading on yield, fiber quality and physiological characteristics of cotton subtending leaves on different fruiting positions. *Photosynthetica*, 1-11.
- Daas-Ghrib, C., Montpied, P., Ksontini, M., & Dreyer, E. 2011. Functional relationships between leaf structure and photosynthetic traits as modulated by irradiance and nutrient availability in a sclerophyllous and a non-sclerophyllous mediterranean oak species. *European Journal of Forest Research*, 130(4), 503-512.
- DaMatta, F. M.; Loos, R. A; Rodrigues, R; Barros, R. S. 2001. Actual and potential photosynthetic rates of tropical crop species. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal* 13:24–32.
- DaMatta, F. M., Godoy, A. G., Menezes-Silva, P. E., Martins, S. C., Sanglard, L. M., Morais, L. E., & Ghini, R. 2016. Sustained enhancement of photosynthesis in coffee trees grown under free-air CO₂ enrichment conditions: disentangling the contributions of stomatal, mesophyll, and biochemical limitations. *Journal of experimental botany*, 67(1), 341-352.
- Daymond, A. J., Hadley, P. 2004. The effects of temperature and light integral on early vegetative growth and chlorophyll fluorescence of four contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of applied biology*, 145(3), 257-262.
- Daymond, A. J., & Hadley, P. 2008. Differential effects of temperature on fruit development and bean quality of contrasting genotypes of cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 153(2), 175-185.
- Daymond, A. J., Tricker, P. J., & Hadley, P. 2011. Genotypic variation in photosynthesis in cacao is correlated with stomatal conductance and leaf nitrogen. *Biologia Plantarum*, 55(1), 99-104.

Daymond, A.J; Tricker, P.J; Hadley, P. 2011. Genotypic variation in photosynthesis in cacao is correlated with stomatal conductance and leaf Nitrogen. *Biologia plantarum* 55 (1):99-104.

de Araújo, R. P., de Almeida, A. A. F., Barroso, J. P., de Oliveira, R. A., Gomes, F. P., Ahnert, D., & Baligar, V. 2017. Molecular and morphophysiological responses cocoa leaves with different concentrations of anthocyanin to variations in light levels. *Scientia Horticulturae*, 224, 188-197.

Deng, J., Ding, G., Gao, G., Wu, B., Zhang, Y., Qin, S., & Fan, W. 2015. The Sap Flow Dynamics and Response of *Hedysarum scoparium* to Environmental Factors in Semiarid Northwestern China. *PloS one*, 10(7), e0131683.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Epskamp, S. 2017. semPlot: Path Diagrams and Visual Analysis of Various SEM Packages' Output. R package version 1.1. <https://CRAN.R-project.org/package=semPlot>

Fernandes, T. J., Del Campo, A. D., Herrera, R., Molina, A. J., 2016. Simultaneous assessment, through sap flow and stable isotopes, of water use efficiency (WUE) in thinned pines shows improvement in growth, tree-climate sensitivity and WUE, but not in WUEi. *Forest Ecology and Management*, 361, 298-308. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foreco.2015.11.029>.

Fiora, A., Cescatti, A., 2006. Diurnal and seasonal variability in radial distribution of sap flux density: implications for estimating stand transpiration. *Tree physiology*, 26(9), 1217-1225. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/26.9.1217>

Ford, C. R., Goranson, C. E., Mitchell, R. J., Will, R. E., Teskey, R. O., 2004. Diurnal and seasonal variability in the radial distribution of sap flow: predicting total stem flow in *Pinus taeda* trees. *Tree Physiology*, 24(9), 951-960. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/24.9.951>

Fox, J; Nie, Z; Byrnes, J. 2017. sem: Structural Equation Models. R package version 3.1-9. <https://CRAN.R-project.org/package=sem>.

Galyuon, I. K. A; Mcdavid, C. R; Lopez, F. B; Spence, J. A. 1996a. The effect of irradiance level on cocoa (*Theobroma cacao* L.): I. Growth and leaf adaptations. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 73:23–28.

Galyuon, I.K.A; McDavid, C.R; Lopez, F.B; Spence, J. 1996b. The effect of irradiance level on cocoa (*Theobroma cacao* L.): II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence. - *Trop. Agr.* 73: 29-33.

García, L, J. 2014. Caracterización de las respuestas fisiológicas y bioquímicas en tres clones de cacao (*Theobroma cacao* L.) sometidos a diferentes niveles de déficit hídrico (Doctoral dissertation, Universidad Nacional de Colombia).

García, L. J., Moreno F. L. P. 2016. Respuestas fisiológicas de *Theobroma cacao* L. en etapa de vivero a la disponibilidad de agua en el suelo. *Acta Agronómica*, 65(1), 44-50.

Guangcheng, S., Doudou, H., Xi, C., Jingtao, C., & Zhenhua, Z. 2016. Path analysis of sap flow of tomato under rain shelters in response to drought stress. *International Journal of Agricultural and Biological Engineering* 9(2):54.

Guo, Y. H., Yuan, C., Tang, L., Peng, J. M., Zhang, K. L., Li, G., & Ma, X. J. 2016. Responses of Clonal growth and photosynthesis in *Amomum villosum* to different light environment. *Photosynthetica*, 1-10.

Helman, D., Osem, Y., Yakir, D., & Lensky, I. M. 2017. Relationships between climate, topography, water use and productivity in two key Mediterranean forest types with different water-use strategies. *Agricultural and Forest Meteorology*, 232, 319-330.

Hernández-Santana, V., Fernández, J. E., Rodríguez-Dominguez, C. M., Romero, R., Diaz-Espejo, A., 2016. The dynamics of radial sap flux density reflects changes in stomatal conductance in response to soil and air water deficit. *Agricultural and Forest Meteorology*, 218, 92-101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2015.11.013>.

Hutcheon, W.V. 1976. Photosynthesis of cocoa: Photosynthesis in relation to the light and plant nutrient status. – *Rep. Cocoa Res. Inst. Ghana 1973-1974*: 186-188.

Ismail, M. R., Hassan, A. H., Dola, K., & Jalil, M. N. 1992. Growth, plant water relation and photosynthesis rate of young *Theobroma cacao* as influenced by water stress. *Pertanika*, 15(2), 93-98.

Jiang, X., Kang, S., Li, F., Du, T., Tong, L., & Comas, L. 2016. Evapotranspiration partitioning and variation of sap flow in female and male parents of maize for hybrid seed production in arid region. *Agricultural Water Management*, 176, 132-141.

Fox, J; Nie, Z; Byrnes, J. 2017. sem: Structural Equation Models. R package version 3.1-8. <https://CRAN.R-project.org/package=sem>

Juhász, Á., Sepsi, P., Nagy, Z., Tőkei, L., & Hrotkó, K. 2013. Water consumption of sweet cherry trees estimated by sap flow measurement. *Scientia Horticulturae*, 164, 41-49.

Kaiser, E., Morales, A., Harbinson, J., Heuvelink, E., Prinzenberg, A.E., Marcelis, L.F., 2016. Metabolic and diffusional limitations of photosynthesis in fluctuating irradiance in *Arabidopsis thaliana*. *Sci. Rep.* 6, <http://dx.doi.org/10.1038/srep31252>.

Kaiser, E., Morales, A., Harbinson, J., Kromdijk, J., Heuvelink, E., & Marcelis, L. F. 2015. Dynamic photosynthesis in different environmental conditions. *Journal of experimental botany*, 66(9), 2415-2426.

Köhler, M., Dierick, D., Schwendenmann, L., & Hölscher, D. 2009. Water use characteristics of cacao and *Gliricidia* trees in an agroforest in Central Sulawesi, Indonesia. *Ecohydrology*, 2(4), 520-529.

Köhler, M., Hanf, A., Barus, H., & Hölscher, D. 2014. Cacao trees under different shade tree shelter: effects on water use. *Agroforestry systems*, 88(1), 63-73.

Köhler, M., Schwendenmann, L., & Hölscher, D. 2010. Throughfall reduction in a cacao agroforest: tree water use and soil water budgeting. *Agricultural and forest meteorology*, 150(7), 1079-1089.

Kreuzwieser, J; Renhenberg, H. 2014. Molecular and physiological responses of trees to waterlogging stress. *Plant Cell Environ.* 37, 2245–2259.

Li, J., Deng, J., Zhou, Y., Ding, G., & Zhang, R. 2016. Modelling Canopy Stomatal Conductance of *Hedysarum scoparium* and Long-term Prediction in Semiarid Region in China. *Nature Environment and Pollution Technology*, 15(3), 847.

- Li, W., Si, J., Yu, T., & Li, X. 2016. Response of *Populus euphratica* Oliv. sap flow to environmental variables for a desert riparian forest in the Heihe River Basin, Northwest China. *Journal of Arid Land*, 8(4), 591-603.
- Lin, B. B., 2010. The role of agroforestry in reducing water loss through soil evaporation and crop transpiration in coffee agroecosystems. *Agricultural and Forest Meteorology*, 150(4), 510-518. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2009.11.010>.
- Liu B, Zhao WZ, Jin BW. 2011. The response of sap flow in desert shrubs to environmental variables in an arid region of China. *Ecohydrol* 4: 448–457. doi: 10.1002/eco.151.
- Looker, N., Martin, J., Jencso, K., Hu, J., 2016. Contribution of sapwood traits to uncertainty in conifer sap flow as estimated with the heat-ratio method. *Agricultural and Forest Meteorology*, 223, 60-71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agrformet.2016.03.014>.
- Martins, M. Q., Rodrigues, W. P., Fortunato, A. S., Leitão, A. E., Rodrigues, A. P., Pais, I. P., ... & Campostrini, E. 2016. Protective Response Mechanisms to Heat Stress in Interaction with High [CO₂] Conditions in *Coffea* spp. *Frontiers in Plant Science*, 7.
- Miyaji, KI; Da Silva, WS; Alvim P de T. 1997. Longevity of leaves of a tropical tree, *Theobroma cacao*, grown under shading, in relation to position within the canopy and time of emergence. *New Phytol* 135:445-54.
- Montpied, P., Granier, A., & Dreyer, E. 2009. Seasonal time-course of gradients of photosynthetic capacity and mesophyll conductance to CO₂ across a beech (*Fagus sylvatica* L.) canopy. *Journal of Experimental Botany* 60(8):2407-2418.
- Norby, R. J., De Kauwe, M. G., Domingues, T. F., Duursma, R. A., Ellsworth, D. S., Goll, D. S., ... & Pavlick, R. 2016. Model–data synthesis for the next generation of forest free-air CO₂ enrichment (FACE) experiments. *New Phytologist*, 209(1), 17-28.
- O'Brien, J. J., Oberbauer, S. F., & Clark, D. B. 2004. Whole tree xylem sap flow responses to multiple environmental variables in a wet tropical forest. *Plant, Cell & Environment*, 27(5), 551-567.

Ofori, A., Padi, F. K., Acheampong, K., & Lowor, S. 2015. Genetic variation and relationship of traits related to drought tolerance in cocoa (*Theobroma cacao* L.) under shade and no-shade conditions in Ghana. *Euphytica*, 201(3), 411-421.

Perez-Martin A., Flexas J., Ribas-Carbó M., Bota J., Tomàs M., Infante J. M., et al. 2009. Interactive effects of soil water deficit and air vapour pressure deficit on mesophyll conductance to CO₂ in *Vitis vinifera* and *Olea europaea*. *J. Exp. Bot.* 60 2391–2405.

Puglielli, G., Varone, L., Gratani, L., & Catoni, R. 2016. Specific leaf area variations drive acclimation of *Cistus salvifolius* in different light environments. *Photosynthetica*, 1-11.

R Development Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R. Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>

Rada, F; Jaimez, R. E; Garcia- Nunez, C; Azocar, A; Ramirez, M. E. 2005. Water relations and gas Exchange in *Theobroma cacao* var. Guasare under periods of water deficits. *Revista de la Facultad de Agronomia (LUZ)* 22:105–112

Raja Harun, R; Hardwick, K. 1988b. The effects of different temperature and water vapour pressure deficit on photosynthesis and transpiration in cocoa. - In: Proceedings of the 10th International Cocoa Research Conference. Cocoa Producers' Alliance, Lagos. 17-23 pp.

Raja Harun, R., Hardwick K. 1988a. The effects of prolonged exposure to different light intensities on the photosynthesis of cocoa leaves. - In: Proceedings of the 10th International Cocoa Research Conference. Cocoa Producers' Alliance, Lagos. 205-209 pp

Reichmann, L. G., Schwinning, S., & Fay, P. A. 2016. Traits of an invasive grass conferring an early growth advantage over native grasses. *Journal of Plant Ecology*, rtw014.

Rousseaux, M. C., Figuerola, P. I., Correa-Tedesco, G., Searles, P. S., 2009. Seasonal variations in sap flow and soil evaporation in an olive (*Olea europaea* L.) grove under two irrigation regimes in an arid region of Argentina. *Agricultural Water Management*, 96(6), 1037-1044. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agwat.2009.02.003>.

Epskamp, S. 2017. semPlot: Path diagrams and visual analysis of various SEM packages' output. R package version 1.0.1. <https://CRAN.R-project.org/package=semPlot>.

- Schmid, I., Franzaring, J., Müller, M., Brohon, N., Calvo, O. C., Högy, P., & Fangmeier, A. 2016. Effects of CO₂ Enrichment and Drought on Photosynthesis, Growth and Yield of an Old and a Modern Barley Cultivar. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 202(2), 81-95.
- Sena, A.R; Kozlowshi, T. T; Reich, P. B. 1987. Some physiological responses of *Theobroma cacao* var. Catongo seedlings to air humidity. *New Phytol.* (1987) 107(59):602-591.
- Serrano, P; Biehl, B. 1996. Light stress on cacao (*Theobroma cacao* L.) fluorometric measurements under different light conditions in the field. In 12th International Cocoa Research Conference, Salvador, Bahia, Brazil, 17–23 November, 583–588.
- Shao, J., Zhou, X., Luo, Y., Li, B., Aurela, M., Billesbach, D., ... & Fu, Y. 2016. Direct and indirect effects of climatic variations on the interannual variability in net ecosystem exchange across terrestrial ecosystems. *Tellus B*, 68.
- Shipley, B. 1999. Testing causal explanations in organismal biology: causation, correlation and structural equation modeling. *Oikos* 86(2): 374-382.
- Shipley, B. 2016. Cause and Correlation in Biology: A User's Guide to Path Analysis, Structural Equations and Causal Inference with R. Cambridge University Press.
- Shipley, B., Vile, D., Garnier, E., Wright, I. J., & Poorter, H. 2005. Functional linkages between leaf traits and net photosynthetic rate: reconciling empirical and mechanistic models. *Functional ecology*, 19(4), 602-615.
- Šigut L., Holíšová P., Klem K., Šprtová M., Calfapietra C., Marek M. V., et al. (2015). Does long-term cultivation of saplings under elevated CO₂ concentration influence their photosynthetic response to temperature? *Ann. Bot.* 116 929–939.
- Xu, Z., Jiang, Y., Jia, B., & Zhou, G. 2016. Elevated-CO₂ Response of Stomata and Its Dependence on Environmental Factors. *Frontiers in plant science*, 7.
- Yamori, W. 2016. Photosynthetic response to fluctuating environments and photoprotective strategies under abiotic stress. *Journal of plant research* 129(3), 379-395.
- Zhang, T., Lamb, E. G., Soto-Cerda, B., Duguid, S., Cloutier, S., Rowland, G., & Booker, H. M. 2014. Structural equation modeling of the Canadian flax (*Linum usitatissimum* L.)

core collection for multiple phenotypic traits. Canadian Journal of Plant Science, 94(8), 1325-1332.

Zhao, L., He, Z., Zhao, W., & Yang, Q. 2016. Extensive investigation of the sap flow of maize plants in an oasis farmland in the middle reach of the Heihe River, Northwest China. Journal of plant research, 1-1

7. Capítulo 7. Consideraciones finales y conclusiones

De acuerdo con el análisis de las estructuras agroforestales de *Theobroma cacao* L. y de la respuesta fisiológica bajo las condiciones de la amazonia, se concluye que:

- En la amazonia, las estructuras agroforestales se tipifican en cuatro tipologías basadas en variables de biodiversidad, composición, distribución vertical y horizontal que se traducen en diferentes niveles de radiación transmitida catalogadas como i. Multiestrato diversificado complejo (SMD), ii. Baja diversidad de árboles regulares (SAR), iii. Baja diversidad de árboles agregados (SAA) y iv. Alta densidad de musáceas (CP).
- Bajo las condiciones de la amazonia y de acuerdo al proceso metodológico para generar tipificaciones y específicamente para modelar la radiación transmitida utilizando diferentes simuladores (SEXI-FS y Shademotion) se encontró una mayor incidencia sobre variables de luz transmitida como la distribución de la radiación fotosintéticamente activa transmitida, área y horas de sombra como también la extinción de la luz (K_n) bajo arreglos agroforestales con mayor cobertura las cuales incidieron fisiológicamente en el cultivo del cacao.
- De acuerdo con el comportamiento observado en el flujo de savia (V_s) en plantas de cacao, se encontró que está influenciado y depende entre otros factores de las condiciones ambientales (RH_a (%), T_a (°C), PAR ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), VPD , (kPa)); además varía entre los distintos arreglos agroforestales.
- El flujo de savia en cacao presentó los mayores niveles al medio día en todos los

arreglos agroforestales; sin embargo, se encontró un efecto de las estructuras agroforestales (SAA y SMD) presentando flujos reversos o basipétalo durante la noche indicando redistribución hidráulica, caso contrario encontrado en alto nivel de radiación (CP) donde siempre fue positivo el flujo de savia.

- El modelo desarrollado para predecir el flujo de savia explicó el efecto de los arreglos agroforestales sobre las variables ambientales y del efecto de estas últimas sobre el comportamiento del V_s en el cacao. Así mismo, este modelo predice las diferencias entre CP y los demás arreglos agroforestales, como también entre SAA y SMD e igualmente tiene la potencialidad de predecir situaciones como transpiración nocturna y flujos inversos de savia a partir de las variables microclimáticas producto de la estructura agroforestal.
- Las plantas de cacao presentaron mayor eficiencia fotosintética en condiciones de mayor radiación sin presentar estrés por fotoinhibición (menor sombrero generado por el arreglo CP), soportado por el aumento fotosintético (A_{max}), una mayor tasa de transporte de electrones (J) a través de *PSII* y mayor capacidad de disipación térmica de la energía de excitación, expresada por la extinción fotoquímica de Chla (qNP), igualmente ajustes bioquímicos (pigmentos fotosintéticos) para disipar excesos de energía.
- De acuerdo con los modelos obtenidos de las ecuaciones estructurales se encontró un buen ajuste en términos estadísticos para explicar los efectos directos e indirectos entre las variables climáticas sobre el comportamiento fisiológico en relación con el intercambio de gases como el flujo de savia en *Theobroma cacao* L. Este sentido se encontró que la variable más importante fue g_s y el factor que más afecta es VPD cuya incidencia fisiológica es mayor fijación de carbono pero que depende de las condiciones ambientales, estas últimas afectadas por los arreglos agroforestales.